# FRESENIUS'
# ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

139. BAND

FÜNFTES HEFT

MIT 8 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1953

Z.anal. Chem.

**Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie.**

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 58 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

---

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 58.—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

**Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,**
**Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.**

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32.— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

**J. F. Bergmann**
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

**Springer-Verlag**
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440

Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

---

**Vertriebsvertretung im Ausland:**

**Lange, Maxwell & Springer Ltd., 242 Marylebone Road, London N. W. 1**

---

Band 139

## Inhaltsverzeichnis.

Heft 5

### Originalabhandlungen.

Seite

**Schleicher, A.**, Katalyse und Induktion bei Redox-Titrationen. VI. Das Gesetz der chemischen Induktion . . . . . 321

**Lydersen, D.**, Indirekte polarographische Analyse mit Hilfe von Komplexbildnern, die eine anodische Depolarisationsstufe ergeben . . . . . 327

**Heyns, K.**, und **C. Kelch**, Über die quantitative Bestimmung von Glucuronsäure und von Glucuronosiden mittels der Naphthoresorcin-Reaktion. Mit 2 Textabbildungen . . . . . 339

**Diemair, W.**, und **K. Boekhoff**, Künstliche Farbstoffe und Fermentreaktionen. Der Einfluß auf die Peroxydase (Kartoffelpreßsaft). 6. Mitteilung. Mit 4 Textabbildungen . . . . . 352

**Dewald, W.**, und **H. Schmidt**, Ergänzung zu der Arbeit: Beiträge zur analytischen Bestimmung der verschiedenen Phosphate nebeneinander. I. Vorschlag zur Verbesserung der Pyrophosphatbestimmung nach Britske-Dragunow . . . . . 359

---

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Institut für Metallhüttenkunde und Elektrometallurgie der Rhein.-Westf. Technischen Hochschule Aachen (Leitung: Professor Dr. H. Winterhager).

# Katalyse und Induktion bei Redox-Titrationen.

## VI. Das Gesetz der chemischen Induktion.

Von

Alwin Schleicher.

*(Eingegangen am 13. Juni 1953.)*

In einem früheren Beitrag der obigen Artikelreihe wurde gezeigt, daß bei allen Redoxydationen zwischen Ionen in wäßriger Lösung eine Gesetzmäßigkeit besteht, welche ganzzahlige Beziehungen zwischen den Reaktionsgrößen, nämlich den Triebkräften, den Reaktionsgeschwindigkeiten und den inneren Widerständen der einzelnen Teilvorgänge beinhaltet. Sie steht in engster Beziehung zu den stöchiometrischen Faktoren des zugrundeliegenden chemischen Umsatzes und der Ganzzahligkeit der Ladungseinheit, dem Elektron[1a].

### *1. Das Gesetz der multiplen Proportionen.*

Man könnte diese Gesetzmäßigkeit auch als die der *chemischen Induktion* bezeichnen, weil gezeigt werden konnte, daß die Erscheinungen der Induktion, wie sie von den elektrischen Strömen her bekannt sind, bei Redox-Reaktionen auch auftreten. Diese sind 1. die Gegenläufigkeit, der gegeneinander gerichtete Verlauf der beiden Teilvorgänge und 2. die Proportionalität und Ganzzahligkeit der oben genannten 3 Reaktionsgrößen.

Es besteht hier aber auch ohne Zweifel eine Beziehung zu dem *Gesetz der multiplen Proportionen*, da dieses zum Unterschied von demjenigen der konstanten Proportionen für die Fälle der Änderung der Wertigkeit, wie sie mit den Redox-Reaktionen verbunden ist, Gültigkeit hat.

In dieser Beziehung ist zunächst eine unterschiedliche Behandlung dieser beiden Gesetzmäßigkeiten in den verschiedenen Lehrbüchern der Chemie von Interesse. Während nämlich die Mehrzahl der kleineren sie lediglich zur Erläuterung des Atombegriffes verwenden, führen z. B. A. F. Holleman u. E. Wiberg[2] sowie H. Staudinger u. G. Rienäcker[3] drei derselben Formen an, nämlich ein erstes Gesetz der konstanten Proportionen, ein zweites der multiplen und ein drittes Gesetz der Äquivalentgewichte Dies geschieht allerdings nicht ohne die Beziehung zwischen dem Atomgewicht und dem Äquivalentgewicht zu erwähnen:

Atomgewicht = Äquivalentgewicht × Wertigkeit. Dagegen wird von P. Nylén u. N. Wigren nur das erste der drei genannten Gesetze erwähnt[4]. Fragt man sich nach dem Grunde hierzu, so findet man leicht, daß das zweite Gesetz ein Ausdruck für den Wechsel der Wertigkeit ist, d. h. die Erhaltung der konstanten Proportion auch beim Valenzwechsel feststellt. Deshalb führen die letztgenannten Autoren nachträglich den Begriff der *Valenzzahlen* ein, und zwar im Zusammenhang mit den Erläuterungen über die stöchiometrischen Berechnungen bei Oxydations-Reduktionsvorgängen.

Das Gesetz der multiplen Proportionen ist also ein spezieller Fall der konstanten bei dieser Art von Vorgängen; es ist ein Gesetz über den Valenz- oder Wertigkeitswechsel und sagt aus, daß sich dieser in ganzzahligen Einheiten, eben den Valenzen alter Auffassung vollzieht. Nach der modernen Theorie von E. Rutherford u. N. Bohr über den Atombau treten die „Valenzelektronen" an die Stelle der Valenzen, ihre Zahl auf der äußersten Elektronenhülle bedingt nicht nur die chemischen Eigenschaften, sondern auch vor allen Dingen die Wertigkeit der Atome. Demgemäß bestehen Redoxydationen in der Aufnahme bzw. Abgabe von Elektronen gemäß den Gleichungen:

1. $Ox_1 + n\,e = Red_1$ und
2. $Red_2 \quad = Ox_2 + n\,e,$

worin $e$ das Elektron und $n$ eine ganze, zumeist kleine Zahl bezeichnen. Zusammen ist: 1. + 2.: $Ox_1 + Red_2 = Red_1 + Ox_2$.

Dies sind rein stöchiometrische Gleichungen nach der Zahl der Elektronen, gelesen im Sinne aller chemischen Gleichungen von links nach rechts. An die Stelle der stofflichen Gewichte treten die Ladungen, einschließlich derjenigen des Atomkerns. Man kann aber auch die beiden Teilvorgänge in ihren Richtungen darstellen, und zwar etwa wie folgt:

1. $Ox_1 + n\,e \leftarrow Red_1$ und
2. $Red_2 \quad \rightarrow Ox_2 + n\,e.$

Dann führt der Vorgang der Elektronenaufnahme einmal von rechts nach links, das andere Mal umgekehrt vom Elektronensender zum Elektronenempfänger. Bildet man nunmehr die Summe, so folgt:

1. + 2.: $Ox_1 + Red_2 \rightleftharpoons Red_1 + Ox_2$.

Diese Gleichung zeigt nicht nur die Umkehrbarkeit und die Gleichgewichtsbildung, sondern sie entspricht auch der Erscheinung der Induktion. Sie zeigt, daß beim Redox-Vorgang Elektronen weder von außen aufgenommen noch abgegeben werden, und sie genügt zugleich dem Gesetz der multiplen Proportionen. Es ist ein rein chemisches Gesetz und gilt nicht nur für die rein stofflichen, sondern auch die energetischen Änderungen.

*2. Die Disproportionierung.*

Zu den Erscheinungen der chemischen Proportionen gehören auch diejenigen der *Disproportionierung*. Sie ist nicht nur ein stöchiometrischer Fall, sondern auch ein energetischer Vorgang. Wenn Chlorgas ($Cl_2$) in Wasser in $Cl^-$ und $Cl^+$ bzw. $ClO^-$ zerfällt, wenn $KClO_3$ beim Erhitzen in KCl und $KClO_4$ zerlegt wird, wenn $Hg_2^{2+}$ in Hg und $Hg^{2+}$ oder $Cu^+$ in analoger Weise in Cu und $Cu^{2+}$ disproportioniert, so sind dies gleichzeitig stattfindende Oxydationen und Reduktionen. Zum Unterschied von den gewöhnlichen Redoxydationen tritt aber hier die Induktion nicht an zwei verschiedenartigen Vorgängen, sondern in ein und demselben Vorgang ein. Bei elektrischen Strömen bezeichnet man diese viel beobachtete Erscheinung als eine *Selbstinduktion*; es induziert sich der primäre Vorgang selbst, worauf für chemische Vorgänge schon bei der Reduktion des Permanganat-Ions verwiesen wurde[1b].

Man kann die Disproportionierung aber auch als eine *Reaktionssteuerung* ansehen, wie namentlich die Vorgänge bei der anodischen Auflösung der Metalle zeigen. Bei vielen derselben beobachtet man, daß sie nach zwei verschiedenen Wertigkeitsstufen in Ionen übergehen, so im Falle des Kupfers in ein- und zweiwertige, in dem des Eisens in zwei- und dreiwertige Ionen.

Nach Lage der zugehörigen Normalpotentiale erfolgt die Auflösung des Kupfers in einer an seinen Ionen freien Lösung zunächst als zweiwertiges mit ${}_0\varepsilon_1$ (Cu, $Cu^{2+}$) = 0,345 Volt. Mit wachsender Konzentration an $Cu^{2+}$ steigt das Potential bis zu dem des ${}_0\varepsilon_2$ (Cu, $Cu^+$) = 0,53 V. Der Gehalt an $Cu^+$ bleibt jedoch gegenüber den $Cu^{2+}$ sehr gering, das Potential steigt nicht weiter, vielmehr löst sich das Metall vorwiegend zu zweiwertigen Ionen. Die Erklärung hierfür liegt nach R. Luther[5] darin, daß zwischen den beiden gebildeten Ionen ein Übergang bei ${}_0\varepsilon_3$ ($Cu^+$, $Cu^{2+}$) = 0,159 V besteht und hierbei das einwertige $Cu_2^{2+}$ gemäß:

1. $2\,Cu^+ \rightleftharpoons Cu^{2+} + Cu$ in zweiwertiges und Metall zerfällt.

Betrachtet man mit Luther den geschilderten Auflösungsvorgang nach seinem Energiebedarf, so muß dieser gleich groß sein, ob das Metall sich unmittelbar zur höheren, oder zuerst zur niederen und von dieser dann zur höheren auflöst. Für das Gleichgewicht des Vorganges besteht:

2. $2\,{}_0\varepsilon_1 = {}_0\varepsilon_2 + {}_0\varepsilon_3$. —

Eine Eisenelektrode ist neben $Fe^{3+}$ nicht beständig, sondern geht gemäß:

3. $2\,Fe^{3+} + Fe \rightleftharpoons 3\,Fe^{2+}$ in $Fe^{2+}$ über.

Bezeichnen ${}_0\varepsilon_1$ (Fe, $Fe^{3+}$) = — 0,032, ${}_0\varepsilon_2$ (Fe, $Fe^{2+}$) = — 0,44 und ${}_0\varepsilon_3$ ($Fe^{2+}$, $Fe^{3+}$) = 0,783 Volt die Normalpotentiale der drei Übergänge, so gilt im Gleichgewicht:

4. $3\,{}_0\varepsilon_1 = 2\,{}_0\varepsilon_2 + {}_0\varepsilon_3$.

Zur Darstellung der Induktion wählen wir das früher verwandte Schema der senkrechten und parallelen Pfeile. Dann ist die Selbstinduktion

beim Kupfer: $\begin{matrix} Cu^{+} & Cu^{+} \\ \uparrow & \downarrow \\ Cu & \rightarrow Cu^{2+} \end{matrix}$ und beim Eisen: $\begin{matrix} Fe^{3+} & Fe^{3+} \\ \uparrow & \downarrow \\ Fe & \longrightarrow Fe^{2+}. \end{matrix}$

Abweichend von der bisherigen Anordnung der Symbole werden beim Kupfer nicht die höheren und niederen Wertigkeitsstufen jeweils in *eine* Zeile gesetzt, sondern zufolge der umgekehrten Lage der Potentiale die höheren und niederen. Beim Eisen entsprechen die höheren Potentiale auch den höheren Wertigkeiten.

Die Darstellung zeigt, daß der induzierende Vorgang $Cu \rightarrow Cu^{+}$ den induzierten $Cu^{+} \rightarrow Cu^{2+}$ hervorruft. Beide verschwinden zugunsten von $Cu \rightarrow Cu^{2+}$. Das Potential von ${}_{0}\varepsilon_{2}$ wird bei einer 1molaren Lösung nur wenig überschritten.

Analoges gilt vom Eisen; der induzierende Vorgang $Fe \rightarrow Fe^{3+}$ wird durch den induzierten $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ zugunsten von $Fe \rightarrow Fe^{2+}$ größtenteils unterdrückt. Es findet hier, wie beim Kupfer, eine Reaktionssteuerung statt, indem jeweils der mit dem höheren Energieaufwand verbundene Vorgang nicht voll zur Auswirkung kommt.

Über die Größe der Selbstinduktion gibt das Verhältnis der Ionenkonzentrationen bzw. -aktivitäten beim Gleichgewicht Auskunft. Aus den Gl. 2. und 4. geht hervor, daß, wie schon Luther ausführte, die Potentiale bei ihm gleich sind*. Es ist dann ${}_{G}\varepsilon_{1} = {}_{G}\varepsilon_{2} = {}_{G}\varepsilon_{3}$, so daß die Aktivitätsverhältnisse und mit ihnen auch die Größe der Selbstinduktion ermittelt werden kann. Sie ist beim

$$\text{Eisen: } \frac{Fe^{2+}}{Fe^{3+}} = 10^{13,8} \text{ und beim Kupfer: } \frac{Cu^{2+}}{Cu^{+}} = 10^{3,14}.$$

Das Eisen ist ein besserer Reduktor der eigenen Ionen-Art als das Kupfer.

Das Verhältnis der transportierten Elektronen ist beim Kupfer gemäß 2.: 2:1:1 und beim Eisen gemäß 4.: 3:2:1. Es ist dies auch dasjenige der Triebkräfte. Es gilt also die Gesetzmäßigkeit der ganzzahligen Proportionen nicht nur für die Stoffmengen, sondern auch für die der transportierten Elektronen.

### *3. Heterogene Katalyse.*

Die Erscheinungen der Induktion lassen sich nicht nur bei den homogenen, sondern auch bei den heterogenen katalytischen Vorgängen anwenden. Hier sind es vor allen Dingen Metalle wie Platin, Eisen, Chrom

* Vergleiche die analogen Berechnungen der Gleichgewichtspotentiale bei der elektrometrischen Maßanalyse[5].

und andere, welche in fein verteilter Form gasförmige Elemente wie $H_2$, $O_2$, $N_2$ an ihrer Oberfläche verdichten. Durch diese findet nach der derzeitigen Anschauung eine Adsorption statt, welche die sonst nach innen gerichteten Bindungen des Moleküls zum Teil nach außen richtet. Die sonst trägen Moleküle betätigen nunmehr Reaktionen, die ohne die adsorptive Bindung an ein Metall nicht realisierbar sind. An einer fein gestalteten, glanzlosen Metalloberfläche findet sich eine große Zahl von Spitzen, Ecken und Kanten der einzelnen Metallkristallite, welche sich als sogenannte aktive Stellen bevorzugt an dem Zustandekommen neuer Molekülbildungen betätigen.

Das bekannteste Beispiel ist hier die beschleunigte Bildung von Wasser aus dem Gemisch der gasförmigen Komponenten an einem sogenannten Platinkontakt.

An diesem Vorgang ist nun insofern eine Induktion beteiligt, als die Aktivierung des $H_2$-Moleküls eine Oxydation und die eines $O_2$-Moleküls eine Reduktion ist, gemäß den Gleichungen:

1. $2\,H_2 \rightarrow 4\,H^+ + 4\,e$
2. $O_2 + 4\,e \leftarrow 2\,O^{2-}$.

In der Summe ist: $2\,H_2 + O_2 = 4\,H^+ + 2\,O^{2-}$.

In der induktiven Darstellung erscheinen beide gemäß:

$$\begin{array}{ccc} 2\,H_2 & & 2\,O^{2-} \\ \downarrow & \text{und} & \uparrow \\ 4\,H^+ & & O_2. \end{array}$$

Nach der derzeitigen Auffassung sind die Metalle Atomkomplexe, welche sich von anderen Molekülen dadurch unterscheiden, daß sich in ihnen die Elektronen mit ganz besonders großer Leichtigkeit bewegen, sie besitzen eine große Leitfähigkeit für den elektrischen Strom. Es können somit die von einem Wasserstoffmolekül abgebbaren Elektronen, etwa an einer Fläche, eintreten, nicht aber ohne daß sofort andere Elektronen an einer entfernter gelegenen Stelle, etwa einer Spitze, wieder abgegeben werden. Befindet sich nun hier ein Sauerstoffmolekül, so kann dieses diese Elektronen unter Bildung von $O^{2-}$ aufnehmen. Diese wiederum können mit den in ihrer Nachbarschaft gebildeten Protonen zu einem Wassermolekül zusammentreten, wenn dieses die geringste Fähigkeit zur Elektronenabspaltung besitzt. Berücksichtigt man die thermischen und volumetrischen Veränderungen, so versteht man, daß sich der geschilderte Vorgang an neuen Gasmolekülen wiederholen kann. Dank der überaus großen Elektronengeschwindigkeit und dank des geringen Abstandes der aktiven Stellen am Metall vollzieht sich nunmehr der gesamte Vorgang mit einer großen, ja sehr großen Geschwindigkeit.

Das induktive System ist somit:

$$\begin{array}{cccc} 2\,H_2 & (Pt)^{4-} & (Pt)^{4-} & 2\,O^{2-} \\ \downarrow & \uparrow & \downarrow & \uparrow \\ 4\,H^+ & (Pt) & (Pt) & O_2. \end{array}$$

(Pt) stellt hier den Atomkomplex des Platins dar, $(Pt)^{4-}$ den negativ geladenen Zustand desselben. Je Molekül Sauerstoff werden 4 Elektronen transportiert.

Es ist hier nicht der Ort, diese Überlegungen fortzusetzen, aber es dürfte möglich sein, sie sinngemäß auch auf andere Fälle zu übertragen.

## Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß

1. das Gesetz der multiplen Proportionen in seiner Anwendung auf Redox-Vorgänge den Erscheinungen bei der Induktion elektrischer Ströme entspricht, wie dies bereits in früherem dargetan wurde. Man kann es daher als das *Gesetz der chemischen Induktion* bezeichnen,

2. die Erscheinung der Disproportionierung derjenigen der *Selbstinduktion* elektrischer Ströme vergleichbar ist. Dies wird am Beispiel der Disproportionierung von $Cu^{I}$- und von $Fe^{III}$-Ion erläutert. Die Größe der Selbstinduktion läßt sich aus dem Aktivitätsverhältnis der verbleibenden Ionen ermitteln,

3. sich auch die Erscheinungen der *heterogenen Katalyse* auf solche der Induktion zurückführen lassen. Dies wird am Beispiel der Knallgasreaktion am Platinkontakt erläutert.

## Literatur.

[1] Schleicher, A.: Diese Z. a) **137**, 401 (1953); b) **134**, 419 (1952). — [2] Holleman, A. F., u. E. Wiberg: „Lehrb. d. anorgan. Chem." Berlin, 1951. — [3] Staudinger, H., u. G. Rienäcker: „Tabellen d. allg. u. anorgan. Chem." Karlsruhe, 1947. — [4] Nylén, P., u. N. Wigren: „Einf. i. d. Stöchiometrie." Dresden-Leipzig, 1945. — [5] Luther, R.: Z. physik. Chem. **34**, 488 (1900); **36**, 385 (1901); siehe Foerster, F.: „Elektrochemie wäßr. Lösungen". S. 406. Leipzig, 1922; Müller, E.: „Elektrometr. Maßanalyse", 6. Aufl., S. 28. Dresden-Leipzig, 1942; Grube, G.: „Grundzüge der Elektrochemie". S. 189. Dresden-Leipzig, 1930; Kortüm, G.: „Lehrb. d. Elektrochemie". S. 414. Wiesbaden, 1948.

Prof. Dr. A. Schleicher, Aachen, Templergraben 55.

Aus dem Institut für Bodenkunde der Landwirtschaftlichen Hochschule, Vollebekk, Norwegen.

# Indirekte polarographische Analyse mit Hilfe von Komplexbildnern, die eine anodische Depolarisationsstufe ergeben.

Von
DAGFIN LYDERSEN.

*(Eingegangen am 29. Mai 1953.)*

Während der letzten Jahre sind der quantitativen Analyse eine Reihe neue Komplexbildner verfügbar geworden. Es dürfte in diesem Zusammenhange ausreichen, auf die unter dem Sammelnamen „Komplexone" bezeichnete Gruppe von Agenzien hinzuweisen. Eine Reihe dieser Stoffe bildet auch mit denjenigen Kationen starke Komplexe, die wegen ihres stark unedlen Depolarisationspotentials der polarographischen Analyse nur schwer zugänglich sind.

Wenn der Komplexbildner mit Quecksilber einen festen Komplex oder einen schwer löslichen Niederschlag bildet, ist eine gut ausgebaute, anodische Depolarisationsstufe des Stoffes dann erhältlich, wenn die Reaktion rasch (reversibel) verläuft, ohne daß die Oberfläche des Quecksilbertropfens durch Niederschlagsbildung blockiert wird. Diese Stufe kann zu indirekter Bestimmung solcher Kationen dienen, die mit dem Depolarisator ebenfalls einen schwer löslichen Niederschlag oder einen festen Komplex bilden.

Die Senkung der Depolarisatorstufe durch den gesuchten Stoff kann eine polarometrische Titration ermöglichen. In manchen Fällen mag es aber auch vorteilhaft sein, diese Senkung nach einer einmaligen Zugabe der zu untersuchenden Lösung zu ermitteln, und sie dann für die Analyse auszuwerten.

Eine gut anwendbare Methode scheint nur dann erzielbar zu sein, wenn die Senkung der benutzten Depolarisationsstufe direkt proportional der Konzentration des gesuchten Stoffes ist. Es wird sich dann um die Auswertung der Differenz zwischen der Stufenhöhe einer reinen Depolarisatorlösung und derjenigen einer Depolarisatorlösung der gleichen Konzentration aber in Anwesenheit des gesuchten Stoffes handeln.

Um die hohe Meßgenauigkeit zu sichern, die eine Ermittlung einer Differenz erfordert, ist es manchmal vorteilhaft, die Stufenhöhe bei festgelegtem Potential gegen die Grundstromlinie zu messen. Die Grundstromlinie selbst ist prinzipiell dadurch erhältlich, daß man nach der

ersten Abmessung der gesuchten Stromstärke der Lösung einen kleinen Überschuß des gesuchten Stoffes zusetzt und die Messung wiederholt.

Praktisch erfolgt die Analyse vorteilhaft, indem man 2 Meßkolben mit der gleichen Menge Depolarisator und Grundlösung versieht, dem einen Kolben ein abgemessenes Volumen der zu untersuchenden Lösung zugibt und beide Kolben bis zur Marke mit Wasser auffüllt. Anschließend wird die Höhe der Depolarisationsstufen in beiden Lösungen ermittelt.

Im folgenden sollen einige der Bedingungen besprochen werden, die für das Gelingen einer solchen Analyse von Bedeutung sind. Man wird sich dabei darauf beschränken, die Fälle zu behandeln, bei denen es sich um eine durch Komplexbildung mit Quecksilber bedingte Depolarisationsstufe handelt, deren Senkung durch Komplexbildung mit dem gesuchten Stoff bedingt ist. Eine Erweiterung der Arbeitsweise auf Fälle, wo die Depolarisationsstufe durch einen Redoxprozeß bedingt ist, oder wo Fällungsreaktionen für die Analyse maßgebend sind, dürfte dann einfach sein.

*Die Reaktionsgleichgewichte.*

Es wird vorausgesetzt, daß der Elektrodenvorgang $Hg \rightarrow Hg^{v+} + ve^-$, in dem $v$ die Anzahl (1 oder 2) der von einem Quecksilberatom abgegebenen Elektronen darstellt, durch das Gleichgewicht:

$$hHg + rhR \rightleftharpoons Hg_hR_{rh} \qquad \text{(I)}$$

bedingt ist, während die Reaktion des gesuchten Stoffes $M$ mit dem Depolarisator $R$ das Gleichgewicht:

$$mrM + rmR \rightleftharpoons M_{mr}R_{rm} \qquad \text{(II)}$$

bildet.

Störungen der behandelten Analyse durch Fremdstoffe der zu untersuchenden Lösung können durch Gleichgewichte der Formen

$$yY + ryR \rightleftharpoons Y_yR_{ry} \qquad \text{(III)}$$

und

$$mzM + zZ \rightleftharpoons M_{mz}Z_z \qquad \text{(IV)}$$

bedingt sein. Es sind hier $Y$ ein beliebiger Stoff, der mit dem Depolarisator $R$, und $Z$ ein beliebiger, der mit dem gesuchten Stoff $M$ reagiert. $h$, $rh$, $mr$, $rm$, $y$, $ry$, $mz$ und $z$ sind Koeffizienten der Reaktionsgleichgewichte.

In den Fällen, wo ein Stoff mit verschiedenen anderen Stoffen reagieren kann, sind die Koeffizienten der Reaktionsgleichgewichte durch 2 Buchstaben angegeben. Der erste Buchstabe bezieht sich auf den reagierenden Stoff selbst, und der zweite auf den Stoff, mit dem er reagiert. Diese Schreibweise bietet den Vorteil, daß man bei den unten errechneten Gleichungen sofort sieht, auf welche Reaktion sich die betreffenden

Indices beziehen. Die Doppelbuchstaben dürfen aber nicht mit Produkten verwechselt werden.

*Die Diffusion.*

Unter Anwendung der Bezeichnungen $N_R$, $N_M$ usw. für die Molzahl der Körper $M$, $R$ usw. sollen zunächst zur Vereinfachung der Rechnung folgende Größen definiert werden:

$$N_r = N_R + rmN_{M_mR_rm} + rhN_{Hg_hR_rh} + \Sigma ryN_{Y_yR_ry} \quad (1)$$

$$N_m = N_M + mrN_{M_mrR_rm} + \Sigma mzN_{M_mzZ_z} \quad (2)$$

$$N_y = N_Y + yN_{Y_yR_ry} \quad (3)$$

$$N_z = N_Z + zN_{M_mzZ_z}, \quad (4)$$

und indem Konzentrationen in gewohnter Weise durch Klammern angegeben werden:

$$C_r = [R] + rm\,[M_{mr}R_{rm}] + rh\,[Hg_hR_{rh}] + \Sigma ry\,[Y_yR_{ry}] \quad (5)$$

$$C_m = [M] + mr\,[M_{mr}R_{rm}] + \Sigma mz\,[M_{mz}Z_z] \quad (6)$$

$$C_y = [Y] + y\,[Y_yR_{ry}] \quad (7)$$

$$C_z = [Z] + z\,[M_{mz}Z_z]. \quad (8)$$

Die Behandlung der Diffusionsvorgänge wird dann in entscheidendem Maße vereinfacht, wenn alle Diffusionskonstanten der beteiligten Körper gleich groß gesetzt werden können. Dies trifft im allgemeinen dann zu, wenn die Pufferung der Lösung so gut ist, daß von einer Diffusion der Wasserstoff-Ionen oder der Hydroxyl-Ionen abgesehen werden kann. Bei einer vernünftigen analytischen Praxis ist dies aber immer der Fall, so daß im folgenden alle Diffusionskonstanten der an der Diffusion beteiligten Stoffe gleich $D$ angenommen werden. In Anlehnung an die bekannte Ableitung des Fickschen Gesetzes ist es dann mit Hilfe der obigen Definitionsgleichungen (1) bis (8) einfach zu zeigen, daß:

$$\dot{N}_r = Dq\frac{\partial C_r}{\partial x} \quad (9)$$

$$\dot{N}_m = Dq\frac{\partial C_m}{\partial x} \quad (10)$$

$$\dot{N}_y = Dq\frac{\partial C_y}{\partial x} \quad (11)$$

$$\dot{N}_z = Dq\frac{\partial C_z}{\partial x}. \quad (12)$$

$\dot{N}_r$, $\dot{N}_m$, $\dot{N}_y$ und $\dot{N}_z$ geben hier die Molzahlen der durch die Gl. (1) bis (4) definierten Größen an, die in einer Zeiteinheit durch die auf der Ortskoordinaten $x$ senkrecht stehenden Fläche der Größe $q$ hindurchdiffundieren.

Eine weitere Ableitung der in den Gl. (9) bis (12) gegebenen Größen nach $x$ gibt in Anlehnung an die Ableitung des zweiten FICKschen Gesetzes Gleichungen der Form:

$$\frac{\partial b}{\partial t} = D\,\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{D}{q}\cdot\frac{dq}{dx}\cdot\frac{\partial C}{\partial x}. \tag{13}$$

Für die Lösung dieser Gleichungen soll hier nur auf die entsprechende Lösung der ILCOVIČschen Gleichung hingewiesen werden, die aus den Lehrbüchern allgemein bekannt ist. Durch die Grenzbedingungen $\dot{N}_r = \dot{N}_m = \dot{N}_y = \dot{N}_z = 0$ an der Elektrodenoberfläche ist es einfach zu zeigen, daß die Konzentrationen $C_r$, $C_m$, $C_y$ und $C_z$ an der Elektrodenoberfläche die gleichen sind wie im Inneren der Lösung.

*Konzentrationen an der Elektrodenoberfläche.*

Aus den Lehr- und Handbüchern der Polarographie kann auch die von ILCOVIČ gezeigte Abhängigkeit der Konzentration $(Hg_hR_{rh})_0$ des Reaktionsproduktes an der Elektrodenoberfläche von der gemessenen Stromstärke $i$ entnommen werden:

$$[Hg_hR_{rh}]_0 = ki. \tag{14}$$

In dieser Gleichung stellt $k$ eine Konstante dar.

Die Beziehung zwischen der auferlegten Spannung und der Konzentration der freien Quecksilber-Ionen $[Hg^{\nu+}]_0$ an der Elektrodenoberfläche ist gegeben durch die NERNSTsche Gleichung:

$$E = E_0 + \frac{RT}{F\nu}\,ln\,[Hg^{\nu+}]_0. \tag{15}$$

In dieser Gleichung sind: $E$ das Elektrodenpotential, $E_0$ das Normalpotential der Elektrodenreaktion, $R$ die Gaskonstante, $T$ die absolute Temperatur und $F = 96500$ Coulomb.

Mit $K_h$ als Massenwirkungskonstante des Gleichgewichtes (1) gibt das M. W. G.:

$$[Hg^{\nu+}]_0 = \left(K_h\,\frac{[Hg_hR_{rh}]_0}{[R]_0^{rh}}\right)^{1/h}; \tag{16}$$

man erhält durch Einsetzen der Gl. (16) in der Gl. (15):

$$E = E_0 + \frac{RT}{h\nu F}\,ln\,K_h + \frac{RT}{h\nu F}\,ln\,\frac{[Hg_hR_{rh}]_0}{[R]_0^{rh}}. \tag{17}$$

Die Größe $[Hg_hR_{rh}]_0/[R]_0^{rh}$ wird im folgenden mit $\alpha$ bezeichnet. Bei gegebenem Potential stellt sie eine Konstante dar.

*Die gemessenen Stromstärken.*

Wenn sowohl die Stromstärke $i_r$ in reiner Depolarisatorlösung als auch die Stromstärke $i_x$ in einer Lösung, die neben dem Depolarisator noch die zu analysierende Substanz enthält, bei gleichem Potential $E$ gemessen werden, hat $\alpha$ somit bei beiden Messungen den gleichen Wert.

$[M_{mr}R_{rm}]_0$ und $\Sigma ry\,[Y_yR_{ry}]_0$ sind in reiner Depolarisatorlösung gleich Null. Da für eine reproduzierbare Messung der Stromstärke eine gute Annäherung am Sättigungsstrom vorausgesetzt werden muß, darf man weiter bei der Überschlagsrechnung $[R]_0$ neben $[Hq_hR_{rh}]_0$ vernachlässigen. Nach den Gl. (5) und (14) ist $i_r$ dann gegeben durch:

$$i_r = \frac{C_r}{k}. \tag{18}$$

Entsprechend erhält man die Stromstärke $i_x$ in Anwesenheit der zu untersuchenden Lösung aus den Gl. (5), (6) und (14):

$$i_x = \frac{1}{k}\Big(C_r - \Sigma ry\,[Y_yR_{ry}]_0 - \frac{1}{mr}C_m - \frac{1}{mr}[M]_0 + \frac{1}{mr}\Sigma mz\,[M_{mz}Z_z]_0\Big). \tag{19}$$

*Der systematische Fehler.*

Unter der Voraussetzung von Proportionalität zwischen der gemessenen Senkung der Depolarisationsstromstärke und dem Zusatz des zu analysierenden Stoffes zur Depolarisatorgrundlösung, ist das Analysenergebnis $N_x$ gegeben durch die Gleichung:

$$N_x = \frac{mr}{rm}N_r\frac{i_r - i_x}{i_r}. \tag{20}$$

Der systematische, relative Fehler dieser Bestimmung ist gegeben durch:

$$f_x = \frac{N_x - N_m}{N_m}. \tag{21}$$

Einsetzen der Gl. (18) und (19) in die Gl. (20), Einführung des gewonnenen Ausdruckes in die Gl. (21) und Umrechnung auf Konzentrationen durch Division des Zählers und Nenners durch das Volumen gibt:

$$f_x = \frac{\frac{mr}{rm}\Sigma ry\,[Y_yR_{ry}]_0 - [M]_0 - \Sigma mz\,[M_{mz}Z_z]_0}{C_m}. \tag{22}$$

Im folgenden soll sowohl die Anwendbarkeit der Methode für bestimmte Analysen als auch die Störung dieser Analysen durch Fremdstoffe im Lichte des systematischen relativen Fehlers besprochen werden.

*Analyse in indifferenter Lösung.*

Es sollen zunächst die Bedingungen untersucht werden, die für das Gelingen der Analyse in sonst indifferenter Lösung erfüllt werden müssen. In diesem Falle sind nur die Reaktionsgleichgewichte (I) und (II) zu beachten, und Gl. (22) erhält die einfache Form:

$$f_x = -\frac{[M]_0}{C_m}. \tag{22a}$$

Eine indirekte Bestimmung des Stoffes $M$ auf diesem Wege kann nur dann in Frage kommen, wenn der Komplex $M_{mr}R_{rm}$ so fest gebunden ist, daß $[M]_0$ neben $[M_{mr}R_{rm}]_0$ bei einer Überschlagsrechnung vernachlässigt werden darf. Wie bereits erwähnt, darf zu gleichem Zwecke $[R]_0$ neben $[Hg_hR_{rh}]_0$ vernachlässigt werden, so daß

$$\frac{C_r - \frac{rm}{mr} C_m}{rh\,[R]_0{}^{rh}} = \alpha$$

gesetzt werden darf.

In den Gleichungen (5) und (6) sind in diesem Falle $\Sigma\, ry\,[Y_yR_{ry}]_0$ und $\Sigma\, mz\,[M_{mz}Z_z]_0$ gleich Null. Mit $K_m$ als Massenwirkungskonstante des Gleichgewichtes (II) erhält man aus dem M. W. G. und den Gl. (5) und (6) die Bedingung dafür, daß der systematische, relative Fehler $f_x$ gleich oder kleiner als der größte erträgliche Fehler $f$ werden soll:

$$\left(C_r - \frac{rm}{mr} C_m\right) C_m^{\frac{rh}{rm}(mr-1)} \geqq \left(\frac{K_m}{mr}\right)^{\frac{rh}{rm}} \cdot \frac{rh \cdot \alpha}{\frac{rh \cdot mr}{f^{rm}}}. \qquad (23)$$

Für einen zahlenmäßigen Überschlag der Möglichkeit einer Analyse können folgende Überlegungen dienen:

Es dürfte von der Methode verlangt werden, daß etwa neun Zehntel der Depolarisatorstufenhöhe für die Analyse ausgenutzt werden kann. In diesem Falle ist:

$$C_r - \frac{rm}{mr} C_m = (1/10)\, C_r.$$

Der Sättigungsstrom dürfte in ausreichender Näherung erreicht sein, wenn $[Hg_hR_{rh}]_0/[R]_0 = 10^3$. Es gilt dann:

$$\alpha = \frac{10^{3rh}}{rh} \cdot C_r^{1-rh}.$$

Nach Einsetzen dieses Zahlenwertes erhält die in Gl. (23) gegebene Bedingung die Form:

$$C_m \geqq \left(\left(\frac{10^4\, mr}{11^{1-1/rh} \cdot rm}\right)^{rm} \cdot \frac{K_m}{mr \cdot f^{mr}}\right)^{\frac{1}{mr + rm - 1}}. \qquad (24)$$

Die Gl. (23) und (24) setzen einen raschen Zerfall des Komplexes $M_{mr}R_{rm}$ an der Elektrodenoberfläche voraus. Wenn der Zerfall dieses Komplexes an der Elektrodenoberfläche so langsam verläuft, daß $[M]_0 = [M]$ gesetzt werden kann, ist es einfach zu zeigen, daß Gl. (23) durch

$$\left(C_r - \frac{rm}{mr} C_m\right)^{rm} C_m^{mr-1} \geqq \frac{K_m}{mr \cdot C^{mr}} \qquad (23a)$$

zu ersetzen ist. Mit den Merkmalen einer guten Analyse, die der Gl. (24) zugrunde gelegt wurden, erhält die Gl. (23a) die Gestalt:

$$C_m \geqq \left( \frac{10^{2mr + rm} \cdot \left( \frac{mr}{rm} \right)^{rm}}{mr} K_m \right)^{\frac{1}{rm + mr - 1}} . \tag{24a}$$

Wenn eine Aufgabe vorliegt, bei der die Forderung der Gl. (24) erfüllt scheint, darf man im allgemeinen bei Analysen in indifferenter Lösung mit gutem Erfolg rechnen. In Fällen, in denen auch die durch Gl. (24a) gegebene Bedingung nicht erfüllt ist, sollte die Analysenmethode schon ohne Experiment verworfen werden.

*Störung der Analyse durch Stoffe, die mit dem Depolarisator reagieren.*

Wenn die zu analysierende Lösung störende Stoffe enthält, die mit dem Depolarisator Komplexe bilden können, sind neben den Gleichgewichten (I) und (II) auch Gleichgewichte der Form (III) zu beachten. Zur Vereinfachung der Rechnung soll angenommen werden, daß die Analyse in sonst indifferenter Depolarisatorlösung gut durchführbar ist, so daß $[M]_0$ neben $\frac{mr}{rm} \Sigma\, ry\, [Y_y R_{ry}]_0$ vernachlässigt werden kann. Die Gl. (22) erhält dann die Form:

$$f_x = \frac{mr\, \Sigma ry\, [Y_y R_{ry}]_0}{rm C_m} . \tag{22b}$$

Die Analysenmethode gibt prinzipiell die Summe aller Stoffe an, die den Forderungen der Gl. (24) genügen. Für die Schätzung der Störung durch Stoffe, die dieser Forderung nicht genügen, soll hier die Bindung dieser Stoffe im Depolarisatorkomplex schwach angenommen werden. Die Konzentrationen $[Y_y R_{ry}]_0$ können dann entweder neben den Konzentrationen $[Y]_0$ vernachlässigt werden oder wegen guter Pufferung gleich den Konzentrationen $[Y]$ dieser Stoffe in der Lösung gesetzt werden. Wenn eine stärkere Bindung im Depolarisatorkomplex vorliegt, ist die Störung auf jeden Fall für die Analyse unerträglich. In der Gl. (6) ist in diesem Falle $\Sigma mz\, [M_{mz} Z_z]$ gleich Null. Mit $K_y$ als Massenwirkungskonstante eines beliebigen Gleichgewichtes, das dem Gleichgewicht (III) entspricht, erhält man aus dem M. W. G. und den Gl. (5), (6) und (7) die Bedingung dafür, daß der systematische, relative Fehler $f_x$ gleich oder kleiner als der größte erträgliche Fehler $f$ werden soll. Sie lautet bei Annahme der schon bei Ableitung der Gl. (23) genannten Annäherungen und bei Vernachlässigung von $\Sigma ry\, [Y_y R_{ry}]_0$ neben $C_r - \frac{rm}{mr} C_m$:

$$\Sigma ry \frac{C_y^{\,y}}{K_y} \left( \frac{C_r - \frac{rm}{mr} C_m}{rh \cdot \alpha} \right)^{\frac{ry}{rh}} \leqq \frac{rm}{mr} C_m \cdot f . \tag{25}$$

Eine Störung durch einen einzigen Stoff $Y$ kann dann passend als unerträglich bezeichnet werden, wenn der durch ihn bedingte relative

Fehler bei der Ausnutzung der halben Depolarisationsstufe 1% übersteigt. Mit $[Hg_h R_{rh}]_0/[R]_0 = 10^3$ erhält man dann die Bedingungsgleichung:

$$C_y \leqq \left(2^{(ry/rh)-ry} \cdot 10^{3ry-2} \cdot \frac{K_y}{ry}\left(\frac{rm}{mr} C_m\right)^{1-ry}\right)^{1/ry}. \qquad (26)$$

Verläuft der Zerfall des Komplexes $Y_y R_{ry}$ an der Elektrodenoberfläche so langsam, daß er nicht berücksichtigt zu werden braucht, ist es einfach zu zeigen, daß die Gl. (25) zu ersetzen ist durch

$$\Sigma ry \frac{C_y^y}{K_y}\left(C_r - \frac{rm}{mr} C_m\right)^{ry} \leqq \frac{rm}{mr} C_m f. \qquad (25a)$$

Entsprechend ist die Gl. (26) zu ersetzen durch:

$$C_y \leqq \left(10^{-2} \cdot \frac{K_y}{ry}\left(\frac{rm}{mr} C_m\right)^{1-ry}\right)^{1/ry}. \qquad (26a)$$

Liegt ein Körper in der zu analysierenden Lösung vor, deren Konzentration der in der Gl. (26a) gegebenen Forderung genügt, darf von einer Störung der Analyse durch diesen Körper abgesehen werden. Wenn sie der Gl. (26) nicht genügt, ist ein Trennungsverfahren immer erforderlich.

*Störung der Analyse durch Stoffe, die mit dem zu bestimmenden Stoff reagieren.*

Wenn die zu analysierende Lösung Stoffe enthält, die mit dem gesuchten Stoff Komplexe bilden, sind neben den Gleichgewichten (I) und (II) auch Gleichgewichte der Form (IV) zu beachten. Zur Vereinfachung der Rechnung soll angenommen werden, daß die Analyse in sonst indifferenter Depolarisatorlösung gut durchführbar ist, so daß $[M]_0$ neben $\Sigma mz\,[M_{mz}Z_z]_0$ vernachlässigt werden kann. Die Gl. (22) erhält dann die Form:

$$f_x = -\sum \frac{mz\,[M_{mz}Z_z]_0}{C_m}. \qquad (22c)$$

Wenn störende Stoffe vorliegen, die stärker an den gesuchten Körper gebunden werden als der Depolarisator, ergibt das Verfahren die Differenz zwischen dem gesuchten Körper und diesen Stoffen. Diese Methode allein reicht dann nicht mehr aus. Für die Schätzung der Störung durch Stoffe, die schwächer gebunden sind, soll hier die Bindung dieser Stoffe im Komplex des gesuchten Körpers so schwach angenommen werden, daß die Konzentrationen $[M_{mz}Z_z]_0$ entweder neben den Konzentrationen $[Z]_0$ vernachlässigt werden können, oder daß die Konzentration $[Z]_0$ wegen guter Pufferung gleich den Konzentrationen $[Z_z]$, dieser Stoffe in der Lösung gesetzt werden kann. Wenn eine stärkere Bindung im störenden Komplex vorliegt, ist die Störung auch hier auf jeden Fall für die Analyse unerträglich. In der Gl. (5) ist in diesem Falle $\Sigma ry[Y_y R_{ry}]$ gleich Null. Mit $K_z$ als Massenwirkungskonstante eines beliebigen

Gleichgewichtes, das dem Gleichgewicht (IV) entspricht, erhält man die Bedingung dafür, daß der systematische relative Fehler $f_s$ zahlenmäßig gleich oder kleiner als der größte erträgliche Fehler $f$ werden soll aus dem M. W. G. und den Gl. (5), (6) und (8). Sie lautet bei Annahme der schon bei Ableitung der Gl. (23) genannten Annäherungen und bei Vernachlässigung von $\frac{rm}{mr} \Sigma mz\,[M_{mz}Z_z]_0$ neben $C_r - \frac{rm}{mr} C_m$:

$$\Sigma mz \frac{C_z^{mz}}{K_z} \left( \frac{K_m}{mr} \left( \frac{rh \cdot \alpha}{C_r - \frac{rm}{mr} C_m} \right)^{\frac{rm}{rh}} \cdot C_m \right)^{\frac{mz}{mr}} \leqq f C_m. \tag{27}$$

Wenn die Störung durch einen einzigen Stoff, $Z$, untersucht werden soll, gibt die Annahme der Merkmale einer guten Analyse die der Gl. (24) zu-, grunde gelegt wurden:

$$C_z \leqq \left( f \cdot \frac{K_z}{mz} \left( \frac{mr}{K_m} \right)^{\frac{mz}{mr}} \left( \frac{11^{\left(1-\frac{1}{rh}\right) \cdot rm}}{10^4 \cdot mr} \right)^{\frac{rm \cdot mz}{mr}} \cdot C_m^{\frac{mz}{mr}(rm-1)+1} \right)^{\frac{1}{z}}. \tag{28}$$

Wenn der Zerfall des Komplexes $M_{mz}Z_z$ an der Elektrodenoberfläche so langsam verläuft, daß er nicht berücksichtigt zu werden braucht, ist es einfach zu zeigen, daß die Gl. (27) zu ersetzen ist durch:

$$\Sigma mz \frac{C_z^z}{K_z} \left( \frac{K_m}{mr} \cdot \frac{C_m}{\left( C_r - \frac{rm}{mr} C_m \right)^{rm}} \right)^{\frac{mz}{mr}} \leqq f C_m. \tag{27a}$$

Entsprechend ist die Gl. (28) zu ersetzen durch:

$$C_z \leqq \left( f \cdot \frac{K_z}{m_z} \left( \frac{mr}{K_m} \right)^{\frac{mz}{mr}} \left( \frac{rm}{10mr} \right)^{\frac{rm \cdot mz}{mr}} C_m^{\frac{mz}{mr}(rm-1)+1} \right)^{\frac{1}{z}}. \tag{28a}$$

Wenn ein Stoff in der zu analysierenden Lösung vorliegt, deren Konzentration der in der Gl. (28) gegebenen Forderung genügt, darf von einer Störung der Analyse durch diesen Körper abgesehen werden. Wenn die Konzentration auch der Gl. (28a) nicht genügt, muß immer auf eine Analyse in der vorliegenden Lösung verzichtet werden.

*Die Bedeutung der Wasserstoff-Ionenkonzentration.*

Wenn die Reaktionsteilnehmer schwache Säuren oder Basen darstellen, kann das Titrationsergebnis von der Wasserstoff-Ionenkonzentration der Grundlösung abhängig sein. Ihr Einfluß auf die Depolarisatorstufe braucht deshalb keine nähere Erörterung, weil die Anwendbarkeit dieser Stufe im fraglichen $p_H$-Bereich doch von vornherein experimentell gesichert sein muß.

Da eine gute Pufferung immer bei den Analysen vorausgesetzt werden muß, kann die Wasserstoff-Ionenkonzentration als konstant angesehen werden. Ihr Einfluß auf die Komplexbildung des Depolarisators kann bequem berücksichtigt werden, indem er in die Massenwirkungskonstanten der angegebenen Bedingungsgleichungen einbezogen wird. Als Beispiel sei hier angenommen, daß neben den Gleichgewichten (II), (III) und (IV) auch die Gleichgewichte:

$$R + H^+ \rightleftharpoons HR^+ \qquad (V)$$

$$HR + H^+ \rightleftharpoons H_2R^+ \qquad (VI)$$

. . . . . .

$$H_{n-1}R + H^+ \rightleftharpoons H_nR^+ \qquad (VII)$$

vorliegen.

In diesem Falle sind die Massenwirkungskonstanten $K_m$ und $K_y$ der obigen Bedingungsgleichungen zu ersetzen durch:

$$K_m' = K_m \frac{[H^+]^n + K_1[H^+]^{n-1} + \ldots + K_1 K_2 \ldots K_n}{K_1 K_2 \ldots K_n} \qquad (29)$$

und

$$K_y' = K_y \frac{[H^+]^n + K_1[H^+]^{n-1} + \ldots + K_1 K_2 \ldots K_n}{K_1 K_2 \ldots K_n}. \qquad (30)$$

In diesen Gleichungen sind $K_1$ bis $K_n$ die Säuredissoziationskonstanten der Gleichgewichte (V) bis (VII).

Wenn die Säuren- oder Basendissoziationskonstanten der übrigen Reaktionsteilnehmer bekannt sind, lassen sich auch für diese entsprechende Korrekturen an den Massenwirkungskonstanten anbringen.

### *Die Bedeutung fremder Depolarisatoren.*

Wenn ein anodischer Depolarisator als Verunreinigung vorliegt, dessen Depolarisationsstufe auf Niederschlagsbildung mit Quecksilber-Ionen beruht, steigt die Stufe anfangs stark an. Eine Stromstärkemessung im Potentialbereich eines solchen starken Ansteigens ist deshalb nicht zu empfehlen, weil sie ein zu genau festgelegtes Potential fordert. Da die Abmessung der gesuchten Stufenhöhe nach dem hier vorgeschlagenen Verfahren immer gegen den durch Überschuß des gesuchten Stoffes ermittelten Grundstrom erfolgt, sollte ein von der zu untersuchenden Lösung unbeeinflußter Sättigungsstrom oder eine schwach ansteigende Stufe nur dann die Messung stören können, wenn ihr Platzbedarf die Meßgenauigkeit des verwendeten Instruments wesentlich beeinträchtigt.

### *Rechenbeispiele.*

Da die erforderlichen Daten in diesem Falle in der Literatur vorliegen, sollen die Möglichkeiten der Bestimmungen von Eisen(III), Calcium und Magnesium mit Hilfe von Versenat (Äthylendiamintetraacetat) als Rechenbeispiel besprochen

werden. Weiter werden die Verhältnisse untersucht, bei denen eine Störung einer Analyse durch Calcium oder Magnesium zu erwarten ist.

Die anodische Versenatstufe ist von B. Matyska u. I. Kössler[1] beschrieben worden. Die Verfasser geben an, daß ihre Höhe im $p_H$-Bereich von etwa 2 bis etwa 11,6 direkt proportional der Versenatkonzentration gemessen wurde, so daß die Anwendung dieser Stufe über einen sehr großen $p_H$-Bereich möglich sein sollte.

Als das für die Depolarisation verantwortliche Reaktionsgleichgewicht geben die Verfasser die Gleichung:

$$Hg^{++} + R^{4-} = HgR^{--}$$

an. In dem Reaktionsgleichgewicht (I) ist somit $rh = 1$.

Die Dissoziationskonstanten der Versensäure sind von G. Schwarzenbach u. H. Ackermann[2] in 0,1 m Kaliumchloridlösung bestimmt worden. Sie betragen:

$$K_1 = 1{,}01 \cdot 10^{-2},\ K_2 = 2{,}13 \cdot 10^{-3},\ K_3 = 6{,}90 \cdot 10^{-7},\ K_4 = 5{,}47 \cdot 10^{-11}.$$

Für die Komplexbildung von Calcium und Magnesium mit Versenat geben G. Schwarzenbach u. H. Ackermann[3] Gleichgewichte folgender Formen an:

$$M + RH \rightleftharpoons MRH \qquad \text{(VIII)}$$

und

$$M + R \rightleftharpoons MR. \qquad \text{(IX)}$$

Mit $K_{VIII}$ und $K_{IX}$ als Massenwirkungskonstanten dieser Gleichgewichte gibt das M. W. G. die Konstante, $K_m'$ in Analogie zur Ableitung der Gl. (29):

$$K_m' = \frac{K_{IX}\,K_{VIII}\,[H^+]^4 - K_1\,[H^+]^3 - K_1\,K_2\,[H^+]^2 + K_1\,K_2\,K_3\,[H^+] + K_1\,K_2\,K_3\,K_4)}{K_1\,K_2\,K_3\,(K_{IX}\,[H^+] + K_{VIII}\,K_4)}. \qquad \text{(29a)}$$

Für Calcium geben G. Schwarzenbach u. H. Ackermann[3] die Konstanten:

$$K_{VIII} = 3{,}2 \cdot 10^{-4} \text{ und } K_{IX} = 3{,}2 \cdot 10^{-11} \text{ und für Magnesium:}$$

$$K_{VIII} = 5{,}3 \cdot 10^{-3} \text{ und } K_{IX} = 2{,}5 \cdot 10^{-9} \text{ an.}$$

Wie aus den Gleichgewichten (VIII) und (IX) hervorgeht, sind bei der Überschlagsrechnung in diesem Falle die Zahlenwerte $mr = rm = 1$ und $my = ym = 1$ in den betreffenden Bedingungsgleichungen einzusetzen.

Die Gl. (24) und (24a) erhalten dann die bequemen Formen:

$$C_m \geqq \frac{10^4}{f} \cdot K_m' \qquad (31)$$

und

$$C_m \geqq \frac{10}{f} \cdot K_m'. \qquad (31a)$$

Entsprechend geben die Gl. (26) und (26a):

$$C_y \leqq 10^4 f K_y' \qquad (32)$$

und

$$C_y \leqq 10 f K_y', \qquad (32a)$$

Tab. 1 enthält Werte von $K_m' = K_y'$ für Calcium und Magnesium, berechnet nach Gl. (29a) als Funktion der Wasserstoff-Ionenkonzentration.

Durch Einsetzen dieser Werte in die Gl. (31) oder in die Gl. (31a) erhält man die berechnete Mindestkonzentration von Calcium oder Magnesium, die bei einer guten Bestimmung in der zu polarographierenden Lösung vorliegen muß.

Da polarographische Bestimmungen bei Konzentrationen größer als etwa $10^{-3}$ n unbequem sind, darf aus den hier verwendeten Daten und der Gl. (31) geschlossen werden, daß Calcium bei $p_H$ größer als 8,5 bestimmbar ist, während eine Bestimmung bei $p_H$ größer als 5,5 dann möglich ist, wenn die Einstellung des Gleich-

Tabelle 1. *Scheinbare „Komplexzerfallskonstanten" für Calcium und Magnesium.* [Berechnet nach der Gl. (29a) als Funktion von $p_H$.]

| $p_H$ | 3 | 3,5 | 4,0 | 4,5 | 4,7 |
|---|---|---|---|---|---|
| $K_{Ca}'$ | 0,45 | 0,061 | $7{,}45 \cdot 10^{-3}$ | $8{,}20 \cdot 10^{-4}$ | $3{,}37 \cdot 10^{-4}$ |
| $K_{Mg}'$ | 10,4 | 2,05 | 0,374 | 0,0538 | 0,0235 |

| $p_H$ | 5 | 5,5 | 6 | 6,5 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|
| $K_{Ca}'$ | $8{,}83 \cdot 10^{-5}$ | $1{,}01 \cdot 10^{-5}$ | $1{,}41 \cdot 10^{-6}$ | $2{,}66 \cdot 10^{-7}$ | $6{,}60 \cdot 10^{-8}$ |
| $K_{Mg}'$ | $6{,}54 \cdot 10^{-3}$ | $7{,}85 \cdot 10^{-4}$ | $1{,}11 \cdot 10^{-4}$ | $2{,}11 \cdot 10^{-5}$ | $5{,}23 \cdot 10^{-6}$ |

| $p_H$ | 7,5 | 8 | 8,5 | 9 | 9,5 |
|---|---|---|---|---|---|
| $K_{Ca}'$ | $1{,}91 \cdot 10^{-8}$ | $5{,}88 \cdot 10^{-9}$ | $1{,}86 \cdot 10^{-9}$ | $6{,}06 \cdot 10^{-10}$ | $2{,}14 \cdot 10^{-10}$ |
| $K_{Mg}'$ | $1{,}51 \cdot 10^{-6}$ | $4{,}65 \cdot 10^{-7}$ | $1{,}48 \cdot 10^{-7}$ | $4{,}80 \cdot 10^{-8}$ | $1{,}70 \cdot 10^{-8}$ |

| $p_H$ | 10 | 10,5 | 11 | 11,5 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|
| $K_{Ca}'$ | $8{,}91 \cdot 10^{-11}$ | $5{,}00 \cdot 10^{-11}$ | $3{,}73 \cdot 10^{-11}$ | $3{,}35 \cdot 10^{-11}$ | $3{,}22 \cdot 10^{-11}$ |
| $K_{Mg}'$ | $6{,}55 \cdot 10^{-9}$ | $3{,}95 \cdot 10^{-9}$ | $2{,}95 \cdot 10^{-9}$ | $2{,}65 \cdot 10^{-9}$ | $2{,}51 \cdot 10^{-9}$ |

gewichtes vom Calciumversenatkomplex an der Elektrodenoberfläche so langsam verläuft, daß die Gl. (31a) angewendet werden kann.

Gl. (31) zeigt weiter, daß Calciumkonzentrationen größer als $3{,}5 \cdot 10^{-5}$ bei $p_H$ über etwa 11,2 gefaßt werden können. Wenn die Gl. (31a) anwendbar ist, wird die kleinste bestimmbare Konzentration nicht mehr vom systematischen Fehler, sondern von der Empfindlichkeit des Instrumentes abhängig.

Entsprechend sieht man, daß eine Bestimmung von Magnesium auch bei den höchsten $p_H$-Werten kaum durchführbar ist, wenn die Gl. (32) benutzt werden muß. Kann die Gl. (31a) benutzt werden, sollte die Bestimmung erst bei $p_H$ kleiner als 6,5 unmöglich sein, und die kleinste bestimmbare Konzentration sollte etwa $3 \cdot 10^{-6}$ m betragen.

Nach Gl. (32a) ist eine Störung einer indirekten Analyse durch 0,01 m Calcium erst bei $p_H$ kleiner als 3,4 ausgeschlossen, während nach Gl. (32) eine Analyse schon bei $p_H$ kleiner als 4,4 von dieser Calciumkonzentration unbeeinflußt bleibt.

Entsprechend ist eine Störung einer Analyse durch 0,01 m Magnesium bei $p_H$ kleiner als 3,8 ausgeschlossen, wenn Gl. (32a) angewendet werden muß, während sie schon bei $p_H$ kleiner als 6 unbeeinflußt bleibt, wenn Gl. (32) angewendet werden kann.

Für die Beurteilung der Möglichkeit einer indirekten Bestimmung von Eisen(III)-salz ist das von G. Schwarzenbach u. J. Heller[4] angegebene Reaktionsgleichgewicht der Form (IX) benutzt worden. Die Komplexzerfallskonstante dieses Gleichgewichtes wird von den Autoren zu $8 \cdot 10^{-26}$ angegeben. Es ist auch hier $mr = rm = 1$, so daß die Gleichungen (31) und (31a) verwendet werden können. Für die Ermittelung von $K_m'$ reicht die Gl. (29) aus. Mit Hilfe dieser Daten und der Gl. (31) ist es einfach zu zeigen, daß die indirekte Eisen(III)-Bestimmung im gesamten $p_H$-Bereich der Versenatstufe durchgeführt werden kann.

## Zusammenfassung.

Es wird eine indirekte polarographische Analyse beschrieben, die sich der Komplexbildung des gesuchten Körpers mit einem anodischen Depolarisator bedient. Als Bedingung eines allgemein durchführbaren

Verfahrens wird die Forderung einer linearen Proportionalität zwischen der Senkung der Depolarisationsstufe und der Menge des zu bestimmenden Stoffes in der Lösung erhoben.

Es wird auf die Möglichkeit einer sehr genauen Stufenabmessung hingewiesen, die auf einer Messung der Depolarisationsstufenhöhe gegen den durch Überschuß des gesuchten Stoffes erhaltenen Grundstrom beruht.

Die Bedingungen für das Erzielen eines guten Analysenergebnisses werden besprochen.

Schließlich wird die Möglichkeit einer indirekten Bestimmung von Calcium, Magnesium und Eisen(III) mit Hilfe von Versenat (Äthylendiamintetraacetat) an Hand von Daten aus der Literatur als Rechenbeispiel angeführt.

### Literatur.

[1] Matyska, B., u. I. Kössler: Collect. czechoslov. chem. Commun. **16**, 221 (1951). — [2] Schwarzenbach, G., u. H. Ackermann: Helv. chim Acta **30**, 1798 (1947). — [3] Schwarzenbach, G., u. H. Ackermann: Helv. chim. Acta **31**, 1029 (1948). — [4] Schwarzenbach, G., u. J. Heller: Helv. chim. Acta **34**, 576 (1951).

Dagfin Lydersen, Norges Landbrukshöyskole, Vollebekk (Norwegen).

Aus dem Chemischen Institut der Universität Hamburg und der wissenschaftl. Abteilung der Deutschen Maizena Werke GmbH., Hamburg.

# Über die quantitative Bestimmung von Glucuronsäure und von Glucuronosiden mittels der Naphthoresorcin-Reaktion.

Von

**K. Heyns und C. Kelch.**

Mit 2 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 18. Mai 1953.)*

Durch neuere synthetische Verfahren ist die Glucuronsäure in größeren Mengen für die Prüfung ihres biochemischen Verhaltens im Organismus verfügbar geworden[1]. Voraussetzung hierfür ist das Vorhandensein von Verfahren zur Bestimmung der freien und der glucosidisch gebundenen Glucuronsäure nebeneinander mit hinreichend zuverlässigen analytischen Methoden. Die bisher beschriebenen Bestimmungsverfahren haben jedoch keineswegs Allgemeingültigkeit, was vielfach nicht gebührend berücksichtigt worden ist, so daß leicht Fehlschlüsse entstehen, die sich vermeiden ließen, wenn man die Leistungsfähigkeit der Methoden in jedem Fall speziell berücksichtigte.

Ein mikroanalytisches Verfahren, das eine quantitative Bestimmung von freier Glucuronsäure in reinen wäßrigen Lösungen mit befriedigender Genauigkeit auszuführen gestattet, wurde von Maughan, Evelyn u.

Browne[2] entwickelt. Dieses Verfahren beruht auf der Naphthoresorcinreaktion von Tollens[3], derzufolge eine wäßrige Lösung von Glucuron bzw. Glucuronsäure mit Salzsäure und Naphthoresorcin* 30 min im siedenden Wasserbad erhitzt wird. Dabei entsteht ein blauer Niederschlag, dessen Menge der jeweils vorhandenen Glucuronsäuremenge proportional ist. Dieser Niederschlag ist in Äther mit blaurot-violetter Farbe löslich; die gebildete Menge des Niederschlags wird nach Ausschütteln in der ätherischen Lösung colorimetrisch bestimmt.

Die Leistungsfähigkeit der von Maughan und Mitarb.[2] angegebenen Arbeitsweise läßt sich jedoch durch verschiedene Abänderungen noch verbessern. Zur Bereitung der wäßrigen NR-Reagenslösung arbeitet man vorteilhafter nach der von Smith[4] beschriebenen Methode. Maughan und Mitarb.[2] verwendeten als Reagens eine wäßrige NR-Lösung, die 24 Std auf 38° C gehalten und anschließend bei 3—5° C lichtgeschützt aufbewahrt wurde. Sie stellten fest, daß bei gleichen Glucuronsäurekonzentrationen die Farbintensitäten dann größer waren als mit alkoholischen NR-Lösungen. Smith[4] und auch Jarrige[5] vertreten die Ansicht, daß die Behandlung der NR-Lösung nach der Methode von Maughan und Mitarb.[2] ein Einstellen des Gleichgewichtes zwischen NR und seinem Oxydationsprodukt bedingt und der farbige Niederschlag weniger von NR, sondern hauptsächlich von dessen Oxydationsprodukt gebildet wird. Smith[4] bereitet daher die Reagenslösung, indem er durch eine wäßrige 0,2%ige NR-Lösung eine Std Sauerstoff leitet und nach 24 Std den Sauerstoffüberschuß durch Durchleiten von Stickstoff entfernt. Mit einer nach diesem Verfahren hergestellten Reagenslösung erhielten wir einen steileren Anstieg der Extinktionskurve als mit einer, die nach der Methode von Maughan und Mitarb.[2] hergestellt war.

Die Extraktion des farbigen Niederschlages führten wir nur mit Äther, also ohne Zusatz von Alkohol, durch. Außerdem wurde der ätherische Extrakt mit Hilfe eines Scheidetrichters von der Reaktionslösung abgetrennt und filtriert. Durch diese Behandlung erreichten wir, daß die zu messenden Farbextrakte nun nicht mehr opalisierten und die Streuung der einzelnen Meßwerte geringer wurde. Während Maughan und Mitarb.[2] mit nur je 2 ml Glucuronsäurelösung, NR-Lösung und konzentrierter Salzsäure die Farbreaktion ausführten, arbeiteten wir mit je 5 ml.

Besonders beachtenswert ist die Feststellung von Mozolowski[6], daß nur innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereiches der Glucuronsäure Proportionalität zwischen Extinktion und Konzentration besteht und nur hier einwandfreie Resultate erzielt werden. Bei unbekannten Konzentrationen ist es daher erforderlich, Verdünnungsreihen durchzu-

* Naphthoresorcin ist im Folgenden immer „NR" abgekürzt.

messen und nur solche Meßwerte zu verwerten, deren Farbintensitäten dem Verdünnungsverhältnis entsprechen.

Die NR-Reaktion erfaßt nicht nur freie Glucuronsäure, sondern sie spricht auch auf alle Glucuronide an. Ihre Reaktionsbedingungen ermöglichen entweder praktisch restlose, aber oft auch nur teilweise Hydrolyse der Glucuronide, so daß die entsprechende Menge jeweils freigewordener Glucuronsäure der Reaktion zugänglich wird. Bekanntlich verläuft die Säurespaltung von Glucosiden, zu denen auch die Glucuronide gehören, in den meisten Fällen nach den Gesetzen der monomolekularen Reaktion:

$$\frac{d\,x}{d\,t} = k\,(a - x) \text{ bzw. } k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x}$$

wobei $a$ die Anfangskonzentration des Glucosids, $x$ die umgesetzte Menge zur Zeit $t$ seit Beginn der Hydrolyse und $k$ die Reaktionskonstante bedeuten. Die Hydrolysengeschwindigkeit ist nicht allein von der Wasserstoff-Ionenkonzentration abhängig, sondern sie ist unter bestimmten, genau definierten Bedingungen eine charakteristische Konstante, die jeweils von der Natur des betreffenden Glucosides abhängt.

Wir untersuchten den Hydrolysenverlauf von Phenol-$\beta$-d-glucuronsäure in Abhängigkeit von der Zeit unter den Bedingungen der NR-Reaktion durch colorimetrische Bestimmung des jeweiligen Phenolgehaltes mit Diazobenzolsulfosäure (Tab. 1). Die Testsubstanz wurde von Glucuron ausgehend über den 1-Bromtriacetyl-glucuronsäuremethylester durch Umsetzung mit Phenol synthetisiert[7].

Tabelle 1. *Hydrolysenverlauf von Phenolglucuronid.*

| Zeit min | Phenolgehalt % | $\frac{a}{a-x}$ | $\log \frac{a}{a-x}$ |
|---|---|---|---|
| 5 | 30,9 | 1,45 | 0,16137 |
| 10 | 52,0 | 2,08 | 0,31806 |
| 15 | 68,3 | 3,16 | 0,49969 |
| 20 | 77,6 | 4,47 | 0,65031 |
| 30 | 89,6 | 9,62 | 0,98318 |
| 40 | 95,2 | 20,8 | 1,31806 |
| 50 | 97,8 | 45,4 | 1,65706 |
| 60 | 98,9 | 90,8 | 1,95809 |
| 70 | 99,5 | 200,0 | 2,30103 |

Die graphische Darstellung der freigewordenen Phenolmenge in Prozenten in Abhängigkeit von der Zeit $t$ zeigt anschaulich den Verlauf der Hydrolyse (Abb. 1, S. 342). Die graphische Darstellung des Verhältnisses $\log \frac{a}{a-x}$ gegen die Zeit $t$ ergibt eine Gerade, die den monomolekularen Reaktionsverlauf der Säurehydrolyse von Phenolglucuronid erweist (Abb. 2). Nach 30 min ist die Phenolglucuronsäure zu 89,6% hydrolysiert. Dieses Ergebnis deckt sich mit dem der NR-Reaktion, die ebenfalls 85,0% der in Phenol

glucuronid vorhandenen Glucuronsäure nach 30 min in 4n Salzsäure anzeigt (Tab. 2 u. 7). Die kleine Differenz zwischen den beiden Methoden kommt dadurch zustande, daß bei der Hydrolyse die Salzsäure im Zeitpunkt *O* (d. h. im Augenblick der Phenolglucuronidzugabe) bereits die

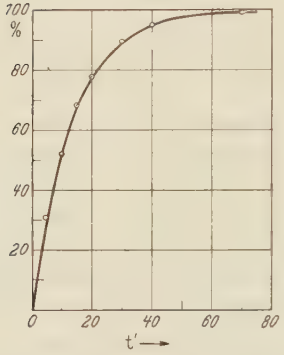


Abb. 1.
Hydrolysenverlauf von Phenolglucuronid. Zunahme der Phenolmenge mit der Zeit.

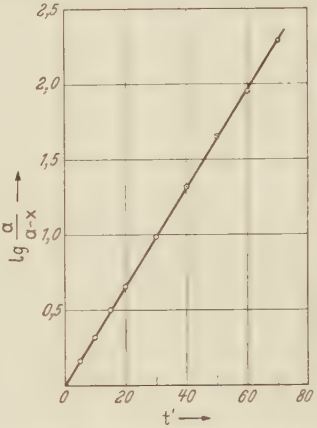


Abb. 2. Hydrolysenverlauf von Phenolglucuronid. Abhängigkeit des Verhältnisses $\log \frac{a}{a-x}$ von der Zeit.

Temperatur des siedenden Wasserbades hat, während bei der NR-Reaktion das Reaktionsgemisch im Zeitpunkt *O* noch Zimmertemperatur aufweist und dann erst in das siedende Wasserbad gebracht wird.

Weiterhin wandten wir die NR-Reaktion auch auf einige andere Glucuronsäurederivate an. Wie Tab. 2 zeigt, werden auch nichtglucosidische Bindungen nur unvollständig hydrolysiert.

Tabelle 2. *Hydrolysierbarkeit einiger Glucuronsäurederivate.*

| Glucuronsäurederivate | Zugefügte Menge berechnet als Glucuron | Gefundene Menge Glucuron | |
|---|---|---|---|
| | µg | µg | % |
| β-Triacetylglucuron . . . . . | 58,3 | 59,1 | 101,3 |
| α-Triacetylglucuron . . . . . | 58,3 | 57,2 | 98,0 |
| Kaliumglucuronat . . . . . | 65,7 | 65,7 | 100,0 |
| β-Tetraacetylglucuronsäuremethylester . . . . . | 46,8 | 27,5 | 58,7 |
| β-Phenoltriacetylglucuronsäuremethylester . . . . . | 42,9 | 18,3 | 42,6 |
| β-Phenol-d-glucuronsäure . . . . | 65,2 | 55,4 | 85,0 |

In Tab. 3 sind Hydrolysendaten von Phenolglucuronid bei einer Temperatur von 100° C zusammengestellt, die von anderen Autoren veröffentlicht wurden[8].

Tabelle 3. *Hydrolysendaten von Phenolglucuronid.*

| Säure und deren Konzentration | Hydrolysendauer in Minuten | % Phenol-glucuronid, hydrolysiert | Verfasser |
|---|---|---|---|
| $H_2SO_4$ 10 n | 60 | 100 | Porteous u. Williams (1949) |
| HCl 1 n | 10 | 16 | Masamune (Tokio 1933) |
| HCl 1 n | 210 | 99 | |
| HCl 0,1 n | 10 | 2 | Garton, Robinson u. Williams[8] |
| HCl 0,1 n | 20 | 8 | |
| HCl 0,1 n | 30 | 14 | |
| HCl 0,1 n | 40 | 20 | |

Es ergibt sich eindeutig, daß der gefundene Glucuronsäurewert bei Anwendung der NR-Reaktion auf Glucuronide nicht immer dem wahren Glucuronsäuregehalt entspricht, weil die Reaktionsbedingungen bei einigen Glucuroniden nicht zur vollständigen Hydrolyse ausreichen. Wenn Maughan und Mitarb.[2], Mozolowski[6] sowie Florkin und Mitarb.[9] festgestellt haben, daß Pregnandiol-, Benzoyl-, Borneol- und Menthol-glucuronid von der NR-Reaktion quantitativ erfaßt werden, so widerspricht dieses keineswegs unseren Beobachtungen, sondern besagt nur, daß diese Verbindungen im Gegensatz zu anderen Glucuroniden, z. B. Phenolglucuronid, vollständig hydrolysiert werden.

Um aber restlose Hydrolyse möglichst aller Glucuronide zu gewährleisten, müssen entweder die Bedingungen während der NR-Reaktion verschärft werden, oder die betreffende Verbindung bzw. das vorliegende Substanzgemisch muß vor Anwendung der NR-Reaktion einer Vorhydrolyse unterworfen werden. Hanson, Mills u. Williams[10] beschreiben eine Methode, in der die Bedingungen der NR-Reaktion gegenüber der Methode von Maughan[2] erheblich verschärft werden. Sie verlängern die Erhitzungsdauer von 30 min auf 2 Std, erhöhen die Konzentration der Salzsäure von etwa 4 n auf etwa 5 n (5,15 n) und die Konzentration der NR-Lösung von 0,2% auf 0,25%, extrahieren den Farbstoff mit Amylalkohol statt mit Äther und messen die Absorption bei 615—620 m$\mu$ statt bei 565 m$\mu$. Diese Methode wurde an einigen Glucuroniden überprüft und ergab brauchbare Resultate. Zu niedrige Werte wurden bei o-Aminophenylglucuronid, o-Amino-p-sulfonamidophenylglucuronid, Euxanthinsäure[10] und Dienöstrolglucuronid[11] gefunden. Am Beispiel der o-Aminophenylglucuronsäure zeigten die obigen Verfasser, daß durch Verlängern der Reaktionsdauer bis zu 4 Std ebenfalls ein brauchbares Ergebnis erzielt wird. Den anfangs zu niedrigen Wert führten sie daher auf unzureichende Hydrolyse infolge besonderer Stabilität dieser glucosidischen Bindung zurück. Gleichzeitig erbrachten sie den Beweis, daß das freiwerdende Aglykon auf die NR-Reaktion ohne Einfluß ist. Auf die Notwendigkeit einer Vorhydrolyse wurde bisher nur von Siplet, Komarov

u. Shay[12] und auch nur für polymere Verbindungen hingewiesen. Sie stellten fest, daß für Untersuchungen von Polyuronsäuren eine Vorhydrolyse erforderlich ist, weil die Bedingungen der NR-Reaktion für eine vollständige Hydrolyse nicht ausreichten. Nach den obigen Ausführungen ist auch bei der Untersuchung gepaarter Glucuronsäuren mit der NR-Reaktion oft eine Vorhydrolyse erforderlich, da auch die verschärfte NR-Reaktion nach Hanson, Mills u. Williams[10] nicht immer restlose Hydrolyse gewährleistet.

Die Vorhydrolyse darf aber nur unter mildesten Bedingungen durchgeführt werden, da Glucuronsäure durch längeres Behandeln mit heißer Salzsäure zersetzt wird. Den Zersetzungsverlauf von reinen Glucuronlösungen nach Behandeln mit 4 n Salzsäure von 100° C ermittelten wir mittels der NR-Reaktion und durch Messen der spezifischen Drehung. Der restliche Glucuronsäuregehalt in Abhängigkeit von der Zeit ist aus Tab. 4 ersichtlich.

Tabelle 4. *Zersetzungsverlauf von Glucuronsäure.*

| Zeit t Minuten | Glucuronsäure gefunden % |
|---|---|
| 30 | 86 |
| 60 | 79 |
| 90 | 75 |
| 120 | 71 |

Liegen Lösungen vor, die freie Glucuronsäure und ein Glucuronid enthalten, so ergibt die NR-Reaktion einen Wert, der sich aus dem Gehalt der ursprünglich vorhandenen freien Glucuronsäure und dem Prozentsatz an Glucuronsäure zusammensetzt, der infolge Hydrolyse aus dem Glucuronid durch die Reaktionsbedingungen abgespalten wird. Für eine getrennte Bestimmung von freier Glucuronsäure einerseits und von gebundener Glucuronsäure andererseits müßten diese vor Anwendung der NR-Reaktion durch eine geeignete Methode voneinander getrennt werden.

Die Tollenssche[3] NR-Reaktion spricht sehr empfindlich allgemein auf Hexuronsäuren, nicht nur auf Glucuronsäure und ihre Derivate an. Bei Penturonsäuren fällt nach Untersuchungen von Huebner u. Link[13] die NR-Reaktion negativ aus. Pentosen und Hexosen liefern unter den gleichen Bedingungen ebenfalls farbige Niederschläge und charakteristisch gefärbte Lösungen, die zwar auch mit Äther oder Chloroform, jedoch nicht mit Benzol — zum Unterschied von Hexuronsäuren — ausgeschüttelt werden können[14].

Abgesehen von der etwas anderen Farbnuance ist diese Reaktion auf Hexosen und Pentosen bei weitem nicht so empfindlich wie auf Hexuronsäuren. Zur Bestimmung der Größenordnung des Einflusses von Dextrose auf die NR-Reaktion wurde einer bestimmten Glucuronsäurekonzentration die 5fache Menge dieser Konzentration von Dextrose zugesetzt. Es erhöhte sich dadurch der gefundene „Glucuronsäure"-Wert gegenüber dem tatsächlich vorhandenen Glucuronsäuregehalt um 5,5%. Wurde

jedoch die 50fache Dextrosemenge zugesetzt, so betrug die Erhöhung des „Glucuronsäure"-Wertes 9%. Dextrose ohne Glucuronsäurezusatz lieferte nach der NR-Reaktion einen rotbraun gefärbten Ätherextrakt, dessen Extinktion bei einer 10%igen Dextroselösung einer 0,033%igen Glucuronsäurelösung entsprach.

Hanson, Mills u. Williams[10] fanden, daß der störende Einfluß von Dextrose und Arabinose ungefähr gleich groß, der von Fructose dagegen etwas größer als der von Dextrose ist. Die Größe des Einflusses von Dextrose unter ihren Reaktionsbedingungen (siehe oben) ist aus der Aufstellung ersichtlich (Tab. 5).

Tabelle 5. *Erhöhung des Glucuronsäurewertes in Gegenwart von Dextrose.*

| Dextrose | Glucuronsäure* | |
|---|---|---|
| | Zugefügt | Gefunden |
| μg | μg | μg |
| 0 | 53,6 | 54,0 |
| 18 | 53,6 | 56,5 |
| 36 | 53,6 | 57,0 |
| 54 | 53,6 | 61,0 |

* zugefügt als l-Menthylglucuronid.

Ferner darf nicht übersehen werden, daß bei physiologischen Untersuchungen außer den oben genannten Stoffen auch andere Verbindungen anwesend sein können, die sowohl mit als auch ohne NR-Reaktion den ätherischen Extrakt färben oder die Intensität des gebildeten Farbstoffes beeinflussen können. Aus diesen Gründen darf die Reaktion nicht ohne weiteres zu physiologischen Untersuchungen eingesetzt werden, sondern ihr muß stets eine Reinigungsoperation vorausgehen, um alle störenden Stoffe zu entfernen und Ergebnisse zu erzielen, die den wahren Verhältnissen entsprechen. Im Blut wird beispielsweise der normalerweise vorgefundene Wert von 3—5 mg% Glucuronsäure schon durch den gewöhnlichen Blutzuckerwert von 60—100 mg% ungenau ausfallen.

Mozolowski[6] wies bereits darauf hin, daß eine genaue Bestimmung im Harn nur dann ausgeführt werden kann, wenn der Gehalt an Glucuronsäuren groß genug ist, um eine beträchtliche Verdünnung zu erlauben. Dadurch ließ sich der Einfluß störender Substanzen so weit herabsetzen, daß der verursachte Fehler innerhalb der Fehlergrenze der Methode lag und die gemessenen Werte den Verdünnungsreihen entsprachen.

Bei geringen Glucuronsäurekonzentrationen versagt dieses Verfahren, und zur Beseitigung störender Verbindungen müssen andere Wege eingeschlagen werden. Hierfür kann allerdings kein allgemein gültiges Verfahren angegeben werden, da die zu untersuchenden Flüssigkeiten wie Harn, Blut, Gewebsextrakte usw. sehr unterschiedliche Zusammensetzung aufweisen. Es muß daher für jeden speziellen Fall ein besonderes

Reinigungsverfahren entwickelt werden. Für die Genauigkeit der jeweiligen Reinigungsmethode ist es um so vorteilhafter, je weniger Arbeitsgänge erforderlich sind, um störende Substanzen, die völlig verschiedenen Stoffklassen angehören können, zu entfernen. Bei mehreren Arbeitsgängen ist es oft sehr schwer, die gleichen Bedingungen genauestens einzuhalten, wodurch die Genauigkeit der Methode entsprechend verringert wird.

Florkin und Mitarb.[9] unterwarfen den Harn vor Durchführung der Farbreaktion einer mehrstufigen Reinigung, in deren Verlauf u. a. durch Behandlung mit Kupfersulfatlösung und Calciumhydroxydsuspension alle Glucuronderivate vom Estertyp hydrolysiert werden und gleichzeitig eine Reihe von störenden Substanzen wie freie Glucuronsäure, Dextrose, Pentosen usw. entfernt werden sollen. Anschließende Behandlung mit Quecksilberacetat soll ferner andere störende Stoffe wie z. B. Indirubin entfernen. Bei der Ausführung der Farbreaktion hält sich Florkin[9] an die Vorschrift von Maughan und Mitarb.[2], nur verwendet er konz. Salzsäure, die mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt wird, während Maughan[2] konz. Salzsäure gebraucht. Die endgültige Reaktionslösung enthält demnach bei der Florkinschen[9] Methode 73,9 g Salzsäure im Liter, d. h. die Lösung ist etwa 2 n salzsauer, während die endgültige Reaktionslösung nach Maughans Methode[2] 147,8 g Salzsäure im Liter enthält, also etwa 4 n salzsauer ist.

Wir hatten bereits festgestellt, daß Phenolglucuronid in 4 n Salzsäure nach 30 min zu etwa 88% hydrolysiert wird. Bei Überprüfung der Hydrolysierbarkeit in 2 n Salzsäure unter sonst gleichen Bedingungen fanden wir, daß nur noch ungefähr 31% der Phenolglucuronsäure hydrolysiert werden. Es kann ohne weiteres angenommen werden, daß neben der Phenolglucuronsäure auch andere schwer oder noch schwerer zu hydrolysierende Glucuronide vorliegen (siehe Hanson, Mills u. Williams[10]). Die Bedingungen der NR-Reaktion, wie sie Florkin[9] anwendet, sind im allgemeinen zu schwach, und die nach dieser Methode gefundenen Glucuronsäurewerte werden in vielen Fällen zu niedrig ausfallen.

Zur Überprüfung der von Florkin und Mitarb.[9] beschriebenen Reinigung des Harnes zur Entfernung einer Reihe störender Stoffe benutzten wir daher die von Maughan[2] entwickelte NR-Reaktion unter Berücksichtigung der von uns vorgenommenen Abänderungen. In der ersten Versuchsreihe (Tab. 6) wurden zunächst wäßrige Lösungen von Glucuron, Dextrose und Phenolglucuronid einzeln und miteinander gemischt der Reinigungsbehandlung unterworfen und anschließend mit den gereinigten Filtraten die Farbreaktion durchgeführt. Gleichzeitig wurde die Farbreaktion mit einer wäßrigen Phenolglucuronidlösung ohne Vorbehandlung ausgeführt (Tab. 7).

Die Ergebnisse zeigen, daß Glucuron und Dextrose einerseits durch die Florkinsche Reinigungsmethode[9] restlos entfernt und dadurch

Tabelle 6. *Einfluß der Reinigung nach* Florkin[9] *auf wäßrige Lösungen von Phenolglucuronid, Glucuron und Dextrose.*

| Zugegebene Mengen von | | | Extinktion | Gefundene Menge Glucuron | |
|---|---|---|---|---|---|
| Phenolglucuronid berechnet als Glucuron | Glucuron | Dextrose | | | |
| µg | µg | µg | E | µg | % |
| 96,6 | — | — | 0,27 | 48 | 50 |
| — | 80 | — | 0 | 0 | 0 |
| — | — | 800 | 0 | 0 | 0 |
| 96,6 | 80 | — | 0,30 | 53 | 55 |
| 96,6 | — | 800 | 0,28 | 50 | 52 |
| 96,6 | 80 | 800 | 0,24 | 43 | 45 |
| 96,6 | 80 | 800 | 0,21 | 37 | 38 |

Tabelle 7. *Gefundene Glucuronmenge aus Phenolglucuronid ohne Reinigungsbehandlung.*

| Zugebene Mengen von | | Extinktion | Gefundene Menge Glucuron | |
|---|---|---|---|---|
| Phenolglucuronid berechnet als Glucuron | Glucuron | | | |
| µg | µg | E | µg | % |
| | 100 | 0,56 | 100 | 100 |
| — | 80 | 0,45 | 80 | 100 |
| 96,6 | — | 0,47 | 84 | 87 |
| 96,6 | — | 0,45 | 80 | 83 |

von der Farbreaktion nicht erfaßt werden, andererseits aber auch ein nicht unbeträchtlicher Teil von Phenolglucuronid aus der Lösung durch diese Behandlung entfernt wird. Durch die Farbreaktion wurden in Lösungen von Phenolglucuronid ohne Vorreinigung etwa 85% des berechneten Glucuronwertes wiedergefunden, während in den gleichen, jedoch nach Florkin[9] vorbehandelten Lösungen unter sonst völlig gleichen Bedingungen nur etwa 50% des berechneten Glucuronwertes wiedergefunden wurden. Bei Lösungen von Phenolglucuronid, die zugleich Glucuron bzw. Dextrose enthielten, betrug die gefundene Glucuronsäuremenge nach Durchführung der Reinigung und der Farbreaktion ebenfalls nur etwa 50% des errechneten Wertes. Bei Lösungen, die außer Phenolglucuron sowohl Glucuron als auch Dextrose enthielten, betrug die anschließend gefundene Glucuronmenge in einem Falle nur 45% und im anderen Falle nur 38%!

In weiteren Versuchsreihen (Tab. 8) untersuchten wir den Einfluß der Reinigungsmethode nach Florkin[9] auf Harne, die mit bekannten Mengen von Phenolglucuronsäure, Glucuron und Dextrose versetzt wurden.

Im wesentlichen entsprechen die Ergebnisse den oben erwähnten Verhältnissen, doch sind die Abweichungen der einzelnen Werte voneinander bei den Harnen größer als bei den wäßrigen Lösungen. Bemerkenswert ist die Abnahme der Extinktion und damit des Gesamt-Glucuron-

Tabelle 8. *Einfluß der Reinigung nach* Florkin *auf Harne, die mit Phenolglucuronid, Glucuron und Dextrose versetzt wurden.*

| | Zugegebene Menge von | | | Extinktion | Gesamtgehalt Glucuron gefunden | Wiedergefundene Menge Glucuron | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Phenolglucuronid berechnet als Glucuron | Glucuron | Dextrose | | | | |
| | µg | µg | µg | E | µg | µg | % |
| Harn A | — | — | — | 1,05 | 191 | 0 | 0 |
| | 96,6 | — | — | 1,28 | 233 | 42 | 44 |
| | — | 80 | — | 0,98 | 178 | 0 | 0 |
| | 96,6 | 80 | — | 1,24 | 226 | 48 | 50 |
| | — | — | 800 | 0,94 | 171 | 0 | 0 |
| | 96,6 | — | 800 | 1,20 | 218 | 47 | 49 |
| | — | 80 | 800 | 0,90 | 164 | 0 | 0 |
| | 96,6 | 80 | 800 | 1,05 | 191 | 27 | 28 |
| Harn B | — | — | — | 0,50 | 88 | 0 | 0 |
| | 96,6 | — | — | 0,76 | 133 | 45 | 47 |
| | — | 80 | — | 0,52 | 91 | „3“ | „3“ |
| | 96,6 | 80 | — | 0,79 | 139 | 48 | 50 |
| | — | — | 800 | 0,45 | 78 | 0 | 0 |
| | 96,6 | — | 800 | 0,67 | 118 | 40 | 41 |
| | — | 80 | 800 | 0,44 | 77 | 0 | 0 |
| | 96,6 | 80 | 800 | 0,62 | 109 | 32 | 33 |

wertes bei Zusätzen von Glucuron oder Dextrose oder Glucuron — Dextrose gegenüber gleichbehandeltem Harn ohne irgendwelche Zusätze. Dagegen sinkt auch hier der Glucuronwert bei gleichzeitiger Anwesenheit von Dextrose und Glucuron in etwa gleichem Maße wie bei der wäßrigen Lösung in Gegenwart dieser beiden störenden Substanzen. Die von Florkin[9] beschriebene Reinigungsmethode ist zwar geeignet, störende Stoffe, wie Glucuron und Dextrose, aus den zu untersuchenden Harnen zu entfernen, gleichzeitig wird aber auch ein hoher Anteil an Glucuroniden — etwa 40—50% — entfernt, wie es in Versuchen mit Phenolglucuronid nachgewiesen wurde. Da Verluste von Glucuroniden auf Grund chemischer Reaktionen unwahrscheinlich sind, ist anzunehmen, daß es sich hierbei um Adsorptionsverluste handelt, die durch die Methodik des Reinigungsverfahrens bedingt sind.

Andere Möglichkeiten zur Entfernung störender Substanzen wären, die Glucuronsäureverbindungen aus den zu untersuchenden Lösungen entweder durch Fällen mit basischem Bleiacetat oder durch Extraktion mit Äther abzutrennen. Extraktionsverfahren sind nur bedingt zur Abtrennung einiger in Äther leicht löslicher Glucuronide (z. B. Mentholglucuronid[15, 16, 17]) geeignet. Allgemein anwendbar ist diese Methode nicht, da die Verteilung der Glucuronsäureverbindungen in die wäßrige Phase und den ätherischen Auszug nach dem Nernstschen Verteilungs-

satz erfolgt, entsprechend dem Verhältnis der Löslichkeiten der Verbindungen in jeder der beiden Phasen. Die Löslichkeiten der Glucuronide in Wasser und in Äther sind so verschieden, daß auch die Verteilungskoeffizienten jeweils andere Werte annehmen. Das bedeutet, daß Glucuronide in der wäßrigen Phase und im Ätherextrakt in einem Verhältnis gefunden werden, das von den Verteilungskoeffizienten der vorliegenden Glucuronide bestimmt wird. Sowohl FLORKIN und Mitarb.[9] als auch MAUGHAN und Mitarb.[2] haben daher diese Art von Reinigungsverfahren, die auf QUICK[15] zurückgehen, abgelehnt.

Es ist zu erwarten, daß einzelne Glucuronide, die in Wasser schwer löslich oder unlöslich sind, fast ausschließlich im ätherischen Auszug gefunden werden, während andere, die in Äther schwer- oder unlöslich sind, kaum vom Äther aufgenommen werden. Ein Verfahren, das auf diesen Tatsachen beruht und eine Trennung aller gepaarten Glucuronsäuren von freier Glucuronsäure gestatten soll, wie es NEUBERG u. SCHEWKET[18] und SCHEWKET[19] beschreiben, ist allein auf Grund der oben dargestellten Überlegungen unbrauchbar. Wir überprüften dieses Verfahren mit Glucuron und synthetischer Phenol-$\beta$-d-glucuronsäure als Testsubstanzen und erhielten folgendes Ergebnis, das die theoretischen Ausführungen bestätigte:

Nach Ausschütteln einer wäßrigen Glucuronlösung ($c$ = 20 mg%) wurden 5,5% und 8,0% Glucuron im ätherischen Auszug gefunden. Nach Ausschütteln einer wäßrigen Phenolglucuronidlösung ($c$ = 13 mg%) wurden im ätherischen Auszug 29,8% und 32,3% und in der wäßrigen Phase 40,4% und 40,0% der theoretisch berechneten Glucuronmenge gefunden. Die Summe der im Ätherextrakt und in der wäßrigen Phase gefundenen Glucuronmenge beträgt 70,2% und 72,3% statt etwa 85%, wie es auf Grund der Hydrolysierbarkeit von Phenolglucuronid unter den Bedingungen der NR-Reaktion zu erwarten wäre. Diese Abweichung kann durch Verluste beim getrennten Aufarbeiten der beiden Phasen erklärt werden.

Nach Untersuchungen von FLORKIN und Mitarb.[9] ist das von SALT[20] beschriebene Verfahren zur Abtrennung von störenden Stoffen durch Fällen der Glucuronsäureverbindungen mit basischem Bleiacetat und Untersuchung des gebildeten Niederschlags ebenfalls ungeeignet. Von zugefügten Glucuronsäuremengen wurden hierbei nur etwa 50% wiedergefunden und störende Substanzen, wie Arabinose und Xylose, konnten nicht entfernt werden.

Die quantitative mikroanalytische Bestimmung von Glucuronsäure bzw. Glucuron in reinen Lösungen mittels der NR-Reaktion führt also zu befriedigenden Ergebnissen. Bei der generellen Bestimmung von Glucuroniden und Polyglucuroniden versagt sie, denn sie erfaßt nur den Gehalt an freier Glucuronsäure, der aus diesen Verbindungen im Verlauf der Reaktion infolge Hydrolyse abgespalten wird. In einigen Fällen genügen die normalen Reaktionsbedingungen (30 min siedendes Wasserbad) zur vollständigen Hydrolyse, und es tritt auch bei Anwendung der

verschärften Reaktion (2—4 Std im siedenden Wasserbad) keine Erhöhung gegenüber den Werten der normalen Reaktion ein. Werden dagegen die gefundenen Werte durch Verschärfen der Reaktionsbedingungen erhöht, ist es ratsam, die NR-Reaktion erst nach ausreichender Vorhydrolyse anzuwenden. Die Mehrzahl der in physiologischen Lösungen vorkommenden Glucuronide ist zwar bekannt, aber über ihre Hydrolysierbarkeit liegen fast keine Angaben vor. Es kann daher nur durch Versuche entschieden werden, in welchen Fällen die normale NR-Reaktion ausreicht, wann die verschärfte NR-Reaktion eingesetzt oder eine Vorhydrolyse durchgeführt werden muß. Dies gilt insbesondere auch bei analytischen Untersuchungen über den Verbleib von Arzneimitteln im Organismus.

Die NR-Reaktion ist nicht spezifisch für Glucuronsäure, sondern ganz allgemein eine sehr empfindliche Reaktion auf Hexuronsäuren. Außerdem geben auch andere Stoffe unter den Bedingungen der NR-Reaktion farbige Niederschläge und beeinflussen daher oft die gefundenen Glucuronsäurewerte. Die zur Abtrennung störender Stoffe beschriebenen Verfahren sind nur in vereinzelten Fällen hierfür geeignet und besitzen daher keine Allgemeingültigkeit. In diesen Fällen arbeitet man oft vorteilhaft ohne Vorreinigung und ermittelt aus Testversuchen die ungefähre Größe der durch die vorliegenden störenden Stoffe verursachten Fehler und berichtigt dementsprechend die gefundenen Werte.

Eine getrennte Bestimmung von freier Glucuronsäure einerseits und von Glucuroniden andererseits kann nicht durchgeführt werden, da es bisher keine Methode gibt, Glucuronsäure von der Vielzahl der Glucuronide, deren chemisches und physikalisches Verhalten auf keinen gemeinsamen Nenner zu bringen ist, abzutrennen. Man erhält lediglich konventionelle Werte, deren Inhalt und Aussagemöglichkeiten jeweils erörtert werden müssen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Bestimmung des Glucuronsäuregehaltes in Körperflüssigkeiten mittels der NR-Reaktion nur dann zu brauchbaren Ergebnissen führt, wenn die Fehler, die infolge wechselnder Hydrolysierbarkeit von Glucuroniden und Polyglucuronsäuren und durch Beeinflussen der Reaktion durch störende Stoffe auftreten können, durch entsprechende Maßnahmen ausgeschaltet, weitgehendst vermindert oder bei der Auswertung der Meßergebnisse entsprechend berücksichtigt werden.

### *Ausführung der Naphthoresorcin-Reaktion.*

*Reagenzien:* 1. Naphthoresorcinlösung 0,2%ig: 0,2 g Naphthoresorcin werden in 100 ml $H_2O$ durch kräftiges Schütteln gelöst. In die klare Lösung wird 1 Std Sauerstoff eingeleitet (3—5 Blasen je sec). Nach 24 Std langem Stehen in verschlossenem Gefäß bei Raumtemperatur wird der Überschuß von Sauerstoff durch Einleiten von Stickstoff in gleicher Weise entfernt (3—5 Blasen je sec, 1 Std lang). Durch Aufbewahren im Eisschrank ist die Reagenslösung längere Zeit haltbar.

2. Salzsäure, konz. (D1,19) p. a.; 3. Äther, DAB 6; 4. Glucuronsäure, reinst.

*Ausführung:* 5 ml einer wäßrigen Lösung unbekannten Glucuronsäuregehaltes (etwa 20—150 $\mu$g), 5 ml konz. Salzsäure und 5 ml Naphthoresorcinlösung werden in einem verschlossenen Reagensgefäß (20 × 150 mm mit Schliffstopfen) gut gemischt und 30 min in ein siedendes Wasserbad gestellt. Darauf wird das Gefäß 10 min in Eiswasser gekühlt, anschließend 15 ml eisgekühlter Äther zugefügt und das verschlossene Gefäß 1 min kräftig geschüttelt. Mittels Scheidetrichter wird die wäßrige Schicht abgetrennt und der gefärbte ätherische Auszug durch ein Faltenfilter in einen Schüttelzylinder filtriert. Wenn etwa 10 ml Filtrat aufgefangen sind, wird der Schüttelzylinder verschlossen und bis zur Messung in Eiswasser gestellt.

Zum Aufstellen der Eichkurve werden Testlösungen bekannten Glucuronsäuregehaltes (20—100 $\mu$g) wie oben beschrieben behandelt. In gleicher Weise wird ein Blindversuch mit 5 ml destilliertem Wasser ausgeführt.

In einem geeigneten Spektralphotometer werden die Extinktionen der ätherischen Extrakte bei 565 m$\mu$ Wellenlänge gemessen. Nach Abzug des Blindwertes von den übrigen Meßwerten werden die Extinktionen der Testlösungen in ein Diagramm eingetragen. Aus der erhaltenen Eichkurve wird der Glucuronsäuregehalt der Untersuchungslösung entnommen. Beim Arbeiten mit einem Pulfrich-Photometer (Filter S 57) entfällt der Abzug des Blindwertes, da der Blindversuch als Kompensationslösung dient. Von Untersuchungslösungen, deren Glucuronsäuregehalt größenordnungsmäßig unbekannt ist, müssen Verdünnungsreihen durchgemessen werden, bis die gefundenen Werte dem Verdünnungsverhältnis entsprechen, da Extinktionen von Glucuronsäuremengen über 200 $\mu$g nicht mehr der Konzentration proportional sind.

## Literatur.

[1] Vgl. K. Heyns u. G. Graefe: Chem. Ber. **86**, 646 (1953); weitere Lit. ebenda, ferner C. L. Mehltretter, C. E. Rist, B. H. Alexander u. R. Z. Mellies: J. Amer. chem. Soc. **73**, 2424 (1951). — [2] Maughan, G. B., K. A. Evelyn u. J. S. L. Browne: J. biol. Chemistry **126**, 567 (1938). — [3] Tollens, B.: Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 1788 (1908). — Tollens, B. u. F. Rorive: Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 1783 (1908); vgl. diese Z. **48**, 657 (1909). — [4] Artz, N. E., u. E. M. Osman: „Biochemistry of Glucuronic Acid", S. 7. Academic Press Publishers, Inc., New York **1950**. — [5] Jarrige, P.: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **29**, 461 (1947). — [6] Mozolowski, W.: Biochemic. J. **34**, 823 (1940). — [7] Heyns, K., u. C. Kelch: Chem. Ber. **86**, 601 (1953). — [8] Garton, G. A., D. Robinson u. R. T. Williams: Biochemic. J. **45**, 65 (1949). — [9] Florkin, M., R. Crismer, G. Duchateau u. R. Houet: Enzymologia (Amsterdam) **10**, 220 (1942). — [10] Hanson, S. W. F., G. T. Mills u. R. T. Williams: Biochemic. J. **38**, 274 (1944). — [11] Dogson, K. S., G. A. Garton, A. L. Stubbs u. R. T. Williams: Biochemic. J. **42**, 357 (1948). — [12] Siplet, H., S. A. Komarov u. H. Shay: J. biol. Chemistry **176**, 545 (1948). — [13] Huebner, C. F., u. K. P. Link: Abstracts of Papers, 110th Meeting American Chemical Society, Chicago, Ill., 9.—13. Sept. 1946, p. 5 R. — [14] Mandel, J. A., u. C. Neuberg: Biochem. Z. **13**, 148 (1908); vgl. diese Z. **48**, 658 (1909). — Neuberg, C.: Biochem. Z. **24**, 436 (1910). — Neuberg, C., u. S. Saneyoshi: Biochem. Z. **36**, 56 (1911); vgl. diese Z. **52**, 132 (1913). — Neuberg, C., u. Maria Kobel: Biochem. Z. **243**, 435 (1931). — [15] Quick, A. J.: J. biol. Chemistry **61**, 667 (1924). — [16] Fischman, W. H.: J. biol. Chemistry **127**, 367 (1938). — [17] Lipschitz, W. L., u. E. Bueding: J. biol. Chemistry **129**, 333 (1939). — [18] Neuberg, C., u. O. Schewket: Biochem. Z. **44**, 502 (1912); vgl. diese Z. **53**, 338 (1914). — [19] Schewket, O.: Biochem. Z. **55**, 4 (1913). — [20] Salt, H. B.: Biochemic. J. **29**, 2705 (1935).

Prof. Dr. K. Heyns, Chemisches Staatsinstitut, Hamburg 36, Jungiusstraße.

Aus dem Universitätsinstitut für Lebensmittelchemie, Frankfurt a. M.

# Künstliche Farbstoffe und Fermentreaktionen.

## Der Einfluß auf die Peroxydase (Kartoffelpreßsaft).

6. Mitteilung [1].

Von

**W. Diemair und K. Boekhoff.**

Mit 4 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 22. April 1953.)*

Die Peroxydase ist im Pflanzen- und Tierreich sehr weit verbreitet. Im Tierkörper ist sie besonders in den Leukocyten enthalten, ferner in den Lymphdrüsen, in der Milz und im Knochenmark. Als Sauerstofflieferant kommt für sie in der lebenden Zelle nur das Wasserstoffperoxyd in Frage. Organische Peroxyde, auch Persäuren können verwertet werden, kommen aber in der Zelle nicht vor. Die Peroxydasewirkung erstreckt sich im wesentlichen auf aromatische Stoffe, aus denen durch Dehydrierung Chinone gebildet werden können; der dabei mobilisierte Wasserstoff wird auf den Sauerstoff übertragen. Zum Unterschied gegenüber der Katalase läßt also die Peroxydase den Sauerstoff gar nicht erst frei werden, sondern verwendet ihn sofort zur Oxydation.

Die Peroxydase ist ähnlich wie die Katalase ein Häminderivat, und zwar ist ihre wirksame Gruppe anscheinend ebenfalls mit dem Bluthämin identisch; ihr $p_H$-Optimum liegt etwa zwischen 5—6.

Im folgenden sollte der Einfluß der künstlichen Farbstoffe auf die Wirkung der Peroxydase untersucht werden. Zur Peroxydasebestimmung existieren zahlreiche Methoden. Die Purpurogallinmethode[2], die Malachitgrünmethode[3], die Jodmethode nach R. Kuhn u. L. Braun[4] und andere Methoden von A. K. Balls[5], M. F. Jayle[6], W. B. Davis[7], H. G. Derx[8] und A. Purr[9]. Orientierende Vorversuche ergaben, daß die Methode nach W. Diemair u. H. Häusser[10] für die vorliegenden Zwecke am geeignetsten war. Die Eigenfarbe der Farbstoffe wirkt hier durch ihre Ätherunlöslichkeit am wenigsten störend.

*Ausführung.* In einen 100 ml fassenden Scheidetrichter, der bei 50 ml eine Marke trägt, werden 4 ml 0,05%ige Ascorbinsäurelösung gegeben, die in 100 ml 1 ml einer 20%igen Essigsäurelösung enthält. Dazu wird zur Pufferung 0,5 ml gesättigte Natriumacetatlösung gefügt und die Ascorbinsäurelösung mit 0,001 n 2,6-Dichlorphenolindophenollösung bis zum Auftreten des mausgrauen Farbtons titriert. Dazu gibt man die gleichfalls bis zum Auftreten des schmutziggrauen Farbtons mit 2,6-Dichlorphenolindophenollösung austitrierte Peroxydaselösung, füllt bis zur 50 ml-Marke mit destilliertem Wasser auf und versetzt die Lösung nach

Tabelle 1. *Eichtabelle für die 0,001 n 2,6-Dichlorphenolindophenollösung.*

| 2,6-Dichlorphenol-indophenol 0,001 n ml | *d* in cm | *D* in % | *K* |
|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 63,0 | 0,101 |
| 2 | 1 | 62,5 | 0,205 |
| 3 | 1 | 48,5 | 0,314 |
| 4 | 1 | 37,2 | 0,430 |
| 5 | 1 | 29,6 | 0,529 |
| 6 | 0,50 | 48,7 | 0,630 |
| 8 | 0,50 | 38,0 | 0,840 |
| 10 | 0,25 | 55,0 | 1,041 |
| 12 | 0,25 | 48,7 | 1,248 |

*d* Schichtdicke; *D* Lichtdurchlässigkeit; *K* Extinktionskoeffizient.

kräftigem Umschwenken mit 2 ml 0,5%iger Wasserstoffperoxydlösung. Nach 30 sec wird das Reaktionsgemisch mit 50 ml saurem Äther, der in 100 ml 0,1 ml 20%ige Essigsäure enthält, überschichtet und nach weiteren 7 sec kräftig durchgeschüttelt, bis der gesamte Farbstoff im Äther gelöst ist. Die ätherische Farbstofflösung wird in ein 50 ml fassendes Meßkölbchen gebracht und hier auf 50 ml ergänzt. Die Messung wird im PULFRICH-Photometer mit Filter S 53 vorgenommen. Aus der beobachteten Extinktion wird auf eine noch näher beschriebene Weise die Peroxydaseaktivität errechnet. Als Vergleichslösung dient eine reine Ätherlösung, die mit Essigsäure versetzt ist.

*Festlegung der Eichkurve.* Zunächst war die Festlegung einer Eichkurve und einer Eichtabelle für die 2,6-Dichlorphenolindophenollösung notwendig. Zu diesem Zweck wurden jeweils 50 ml mit doppelt destilliertem Wasser hergestellte Farblösungen verschiedener Konzentrationen mit 50 ml essigsaurem Äther ausgeschüttelt und mit Filter S 53 im PULFRICH-Photometer gemessen. Die gefundenen Werte sind Mittelwerte mehrerer Bestimmungen und aus der Tab. 1 u. Abb. 1 zu ersehen.

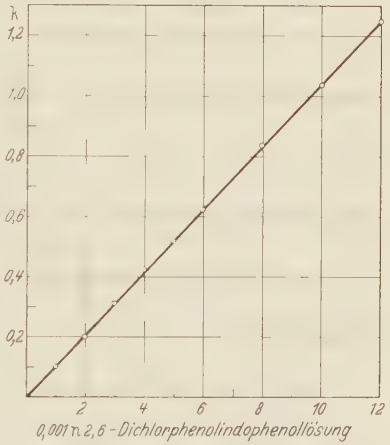


Abb. 1. Eichkurve für 0,001 n 2,6-Dichlorphenolindophenollösung.

Die Eichkurve und -tabelle beweisen die Gültigkeit des LAMBERT-BEERschen Gesetzes für reine 2,6-Dichlorphenolindophenollösungen.

### *Die Bestimmung des Peroxydasegehaltes eines verdünnten Kartoffelpreßsaftes.*

Für die folgenden Untersuchungen wurde als Fermentlösung ein verdünnter Kartoffelpreßsaft verwendet. Zu dessen Herstellung werden 10 g gewaschene, geschälte Kartoffeln auf einer Glasreibe gerieben, mit

Tabelle 2. *Der Peroxydasegehalt des Kartoffelpreßsaftes.*

| Kartoffelpreßsaft ml | *d* in cm | *D* in % | *K* | *F* in ml | *Fa* in ml |
|---|---|---|---|---|---|
| — | 3 | 90 | 0,020 | 0,20 | |
| 0,5 | 3 | 49 | 0,103 | 1,05 | 0,85 |
| 1 | 1 | 68 | 0,168 | 1,60 | 1,40 |
| 2 | 1 | 43 | 0,362 | 3,50 | 3,30 |
| 3 | 1 | 30 | 0,523 | 5,05 | 4,85 |

*d* Schichtdicke; *D* Lichtdurchlässigkeit; *K* Extinktionskoeffizient; *F* neugebildete Farbstoffmenge in ml 0,001 n 2,6 Dichlorphenolindophenollösung; *Fa* Blindversuch Farbstoffzahl = Maß für die absolute peroxydatische Wirksamkeit.

ungefähr 60 ml Wasser in ein Kölbchen geschlämmt. 1 Std lang unter öfterem Umschütteln extrahiert und dann zentrifugiert. Nach dem Filtrieren fügt man gesättigte Natriumacetatlösung hinzu und titriert die Lösung mit 2,6-Dichlorphenolindophenollösung bis zum Auftreten des mausgrauen Farbtons. Jetzt wird auf 100 ml aufgefüllt und die Lösung unter Eis-Kochsalzkühlung aufbewahrt.

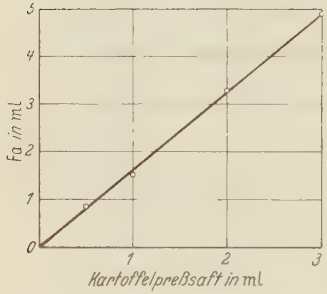


Abb. 2. Peroxydasegehalt des verdünnten Kartoffelpreßsaftes.

Der Peroxydasegehalt dieser Kartoffelpreßsaftlösung wurde nach obiger Vorschrift bestimmt. Der Versuch wurde bei $p_H = 6$ durchgeführt, da hier eine maximale Farbstoffbildung stattfindet. Die Werte sind in Tab. 2 und Abb. 2 festgehalten.

Aus Tab. 2 und Abb. 2 ist zu erschen, daß die Bestimmmung zur Prüfung der Peroxydasewirksamkeit im Kartoffelpreßsaft geeignet ist.

*Der Einfluß der Farbstoffe auf Peroxydase (Kartoffelpreßsaft).*

Bei der Durchführung der Bestimmung kamen die Azo-, die heterocyclischen Chinon-, die Triphenylmethanfarbstoffe und Nigrosin in wäßriger Lösung zur Anwendung. Der Einfluß der fettlöslichen Farbstoffe *Buttergelb* und *Ceresorange* konnte wegen ihrer Ätherlöslichkeit nicht untersucht werden. Als Versuchsanordnung diente die oben beschriebene Methode nach W. Diemair u. H. Häusser[11]. Die Farbstofflösung wurde zu der austitrierten Ascorbinsäurelösung hinzugegeben und dann die Peroxydaselösung hinzugefügt. Nach Auffüllen auf 50 ml mit destilliertem Wasser wurde wie üblich weiter behandelt. Als Fermentlösung wurden 3 ml des wie oben angegeben hergestellten Kartoffelpreßsaftes verwendet, der jeden Tag frisch hergestellt werden mußte, weil die Lösung nicht haltbar war.

Für den Fall, daß sich vielleicht noch geringe Mengen Farbstoff im Äther lösen könnten, mußte neben der eigentlichen Versuchsreihe stets ein Leerversuch unter den gleichen Bedingungen mit denselben Farbstoffmengen laufen, aber ohne Zusatz von Enzym. Die Versuche wurden wieder bei $p_H = 6$ durchgeführt.

Zum besseren Vergleich wurden die Werte in Prozente umgerechnet, da die peroxydatische Wirkung der Kartoffelpreßsäfte immer etwas schwankt.

Die sich ergebenden Werte sind Mittelwerte aus 3 Bestimmungen und in den Tab. 3 und 4 festgehalten.

Tabelle 3. *Der Einfluß der Azofarbstoffe auf die Peroxydase.*

| Farbstoff | mg Farbstoff in 50 ml | *K* | *F* in ml | *Fa* in ml | Hemmung in Prozent |
|---|---|---|---|---|---|
| Blindversuch ohne Farbstoff | — | 0,535 | 5,15 | 4,95 | — |
| Bordeaux R | 30 | 0,535 | 5,15 | 4,95 | 0 |
| Brillantschwarz | 30 | 0,528 | 5,10 | 4,90 | 0 |
| Cochenillerot A | 30 | 0,538 | 5,20 | 5,00 | 0 |
| Echtgelb extra | 30 | 0,535 | 5,15 | 4,95 | 0 |
| Echtrot E | 30 | 0,530 | 5,10 | 4,90 | 0 |
| Gelb 27175 | 30 | 0,535 | 5,15 | 4,95 | 0 |
| Blindversuch ohne Farbstoff | — | 0,666 | 6,40 | 6,20 | — |
| Naphthalrot S | 30 | 0,666 | 6,40 | 6,20 | 0 |
| Orange GG conc. | 30 | 0,670 | 6,42 | 6,22 | 0 |
| Orange SXX | 30 | 0,675 | 6,50 | 6,30 | 0 |
| Ponceau 6 R | 30 | 0,670 | 6,42 | 6,22 | 0 |
| Tartrazin XX | 30 | 0,666 | 6,40 | 6,20 | 0 |
| Thiazinbraun R | 30 | 0,666 | 6,40 | 6,20 | 0 |

*K* Extinktionskoeffizient; *F* ausgeschiedene Farbstoffmenge in ml; *Fa* Farbstoffzahl in ml.

Aus diesen experimentellen Befunden geht hervor, daß bei *Rhodamin B* und *Rhodulinorange NO* bei steigender Farbstoffkonzentration eine Hemmung der Peroxydasereaktion zu beobachten ist, während sämtliche anderen Farbstoffe keinen Einfluß ausüben. Die prozentuale Hemmung dieser beiden Farbstoffe ist in Abb. 3 wiedergegeben. *Rhodamin B* hemmt ab 2 mg in der angewandten Versuchsanordnung entsprechend 40 mg/l und *Rhodulinorange NO* ab 3 mg, entsprechend 60 mg/l. Dies kommt etwa der Farbstoffkonzentration gleich, die zur Färbung von Lebensmitteln angewendet wird.

*Erythrosin* und *Rhodulinorange NO* zeigen eine erhöhte Extinktion, die, wie der Blindversuch zeigt, durch eine geringe Löslichkeit des Farbstoffes in Äther verursacht wird.

Tabelle 4. *Der Einfluß der heterocyclischen Chinon-, der Triphenylmethanfarbstoffe und des Nigrosins auf die Peroxydase.*

| Farbstoff | mg Farbstoff in 50 ml | *K* | *F* in ml | *Fa* in ml | Hemmung in Prozent |
|---|---|---|---|---|---|
| Blindversuch ohne Farbstoff | — | 0,666 | 6,40 | 6,20 | — |
| Erythrosin | 10 | 0,740 | 7,10 | 6,30 | 0 |
| „ | 20 | 0,841 | 8,00 | 6,20 | 0 |
| Blindversuch ohne Farbstoff | — | 0,646 | 6,20 | 6,00 | — |
| Rhodamin B | 1 | 0,646 | 6,20 | 6,00 | 0 |
| „ „ | 2 | 0,541 | 5,20 | 5,00 | 16 |
| „ „ | 5 | 0,402 | 3,85 | 3,65 | 39 |
| „ „ | 8 | 0,301 | 2,90 | 2,70 | 55 |
| „ „ | 10 | 0,311 | 3,00 | 2,40 | 60 |
| Rhodulinorange NO | 2 | 0,646 | 6,20 | 6,00 | 0 |
| „ „ | 5 | 0,629 | 6,00 | 4,90 | 18 |
| „ „ | 8 | 0,561 | 5,40 | 3,95 | 34 |
| „ „ | 10 | 0,520 | 5,00 | 3,00 | 50 |
| Blindversuch ohne Farbstoff | — | 0,786 | 7,52 | 7,32 | — |
| Lichtgrün SF | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| Patentblau AE | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| Nigrosin | 30 | 0,786 | 7,52 | 7,32 | 0 |

*K* Extinktionskoeffizient; *F* ausgeschiedene Farbstoffmenge in ml; *Fa* Farbstoffzahl in ml.

### *Der Einfluß der reduktiven Spaltstücke und Komponenten auf Peroxydase.*

Wenn auch die Farbstoffe als solche zum größten Teil nicht hemmen, so liegt doch der Verdacht nahe, daß die einzelnen Komponenten, aus denen die Farbstoffe zusammengesetzt sind, und die bei der reduktiven Spaltung im Organismus entstehenden Amine die Peroxydase hemmen.

Aus diesem Grunde wurden einzelne Komponenten und Spaltstücke der Farbstoffe auf ihre inhibierende Wirkung untersucht.

Die Versuchsanordnung war die beschriebene. Die Substanzen kamen in wäßriger oder alkoholischer Lösung verschiedener Konzentrationen zur Anwendung. Die Ergebnisse sind Mittelwerte von 3 Bestimmungen und in den Tab. 5 und 6 festgehalten.

Die Tab. 5 zeigt, daß beim Zusatz von *Dimethyl-p-phenylendiamin*, welches bei der reduktiven Spaltung von Buttergelb entsteht, eine geringere Farbstoffbildung stattfindet. Dies braucht nicht unbedingt als eine Hemmung des Ferments gedeutet zu werden, sondern ist wahrscheinlich durch die Konkurrenz des Dimethyl-p-phenylendiamins zu erklären, das ja auch als Substrat für die Peroxydase Verwendung findet.

Tabelle 5. *Der Einfluß der Spaltstücke auf die Peroxydase.*

| Spaltstücke der Farbstoffe | mg in 50 ml | *K* | *F* in ml | *Fa* in ml | Hemmung in Prozent |
|---|---|---|---|---|---|
| Blindversuch | — | 0,786 | 7,52 | 7,32 | 0 |
| Anilin | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| Dimethyl-p-phenylendiamin | 10 | 0,560 | 5,40 | 5,20 | 29 |
| Dimethyl-p-phenylendiamin | 30 | 0,316 | 3,50 | 2,85 | 61 |
| α-Naphthylamin | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| 1-Amino-2-naphthol-6-sulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| 1-Amino-2-naphthol-6,8-disulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,786 | 7,52 | 7,32 | 0 |
| 1-Amino-2-naphthol-3,6-disulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,770 | 7,40 | 7,20 | 0 |
| 1-Amino-2-naphthol-3,6,8-trisulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,772 | 7,41 | 7,21 | 0 |
| Naphthionsäure (Na-Salz) | 30 | 0,780 | 7,50 | 7,30 | 0 |
| Sulfanilsäure (Na-Salz) | 30 | 0,775 | 7,45 | 7,25 | 0 |

*K* Extinktionskoeffizient; *F* ausgeschiedene Farbstoffmenge in ml; *Fa* Farbstoffzahl in ml.

Tabelle 6. *Der Einfluß der Komponenten auf die Peroxydase.*

| Komponente der Farbstoffe | mg in 50 ml | *K* | *F* in ml | *Fa* in ml | Hemmung in Prozent |
|---|---|---|---|---|---|
| Blindversuch | — | 0,821 | 7,90 | 7,70 | — |
| α-Naphthol | 30 | 0,820 | 7,90 | 7,70 | 0 |
| β-Naphthol | 30 | 0,815 | 7,81 | 7,61 | 0 |
| 2-Naphthol-6-sulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,815 | 7,81 | 7,61 | 0 |
| 2-Naphthol-6,8-disulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,815 | 7,81 | 7,61 | 0 |
| 2-Naphthol-3,6-disulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,820 | 7,90 | 7,70 | 0 |
| 2-Naphthol-3,6,8-trisulfonsäure (Na-Salz) | 30 | 0,820 | 7,90 | 7,70 | |
| 1,4 Aminonaphthol | 30 | 0,821 | 7,90 | 7,70 | 0 |
| Blindversuch | — | 1,186 | 11,40 | 11,20 | — |
| Acridin | 1 | 1,184 | 11,40 | 11,20 | 0 |
| .. | 2 | 1,060 | 10,20 | 10,00 | 11 |
| .. | 5 | 0,952 | 9,15 | 8,95 | 20 |
| .. | 10 | 0,520 | 5,00 | 9,80 | 56 |
| „ | 20 | 0,218 | 2,10 | 1,90 | 80 |
| „ | 30 | 0,177 | 1,70 | 1,50 | 87 |
| Azobenzol | 30 | 1,182 | 11,30 | 11,10 | 0 |
| Phthalsäure | 30 | 1,180 | 11,40 | 11,20 | 0 |

*K* Extinktionskoeffizient; *F* ausgeschiedene Farbstoffmenge in ml; *Fa* Farbstoffzahl in ml.

Das Dimethyl-p-phenylendiamin wird daher wahrscheinlich oxydiert zum Wursterschen Rot. Dadurch tritt eine geringere Rückbildung des 2,6-Dichlorphenolindophenols aus dem Leukofarbstoff durch die Peroxydasewasserstoffperoxydwirkung ein.

Weiter ist aus Tab. 6 zu ersehen, daß das *Acridin* einen inhibierenden Einfluß zeigt. Die prozentuale Hemmung ist in Abb. 4 festgehalten. Sie beträgt bei 2 mg 11% und bei 10 mg 56%.

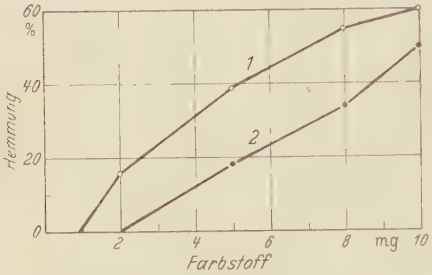


Abb. 3.

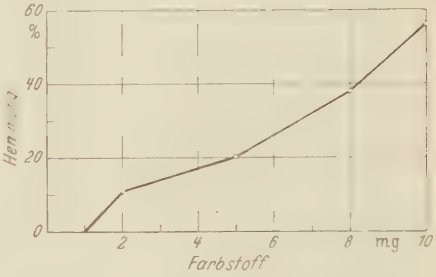


Abb. 4.

Abb. 3. Hemmung der Peroxydase durch heterocyclische Chinonfarbstoffe. *1* Rhodamin B, *2* Rhodulinorange NO.

Abb. 4. Hemmung der Peroxydase durch Acridin.

Vergleicht man die Abb. 4 mit der Kurve von *Rhodulinorange NO* in Abb. 3, so kann man feststellen, daß die beiden Kurven in ihrem Verlauf fast übereinstimmen; *Rhodulinorange NO* ist ein Tetramethylacridinchlorhydrat.

Alle anderen untersuchten Komponenten und Spaltstücke zeigen in dieser Versuchsanordnung *keinen* hemmenden Einfluß.

## Zusammenfassung der Ergebnisse.

*Rhodulinorange NO*, sein Grundkörper, das *Acridin* und *Rhodamin B* hemmen die peroxydatische Wirksamkeit des Kartoffelpreßsaftes. Ebenso üben die beiden Farbstoffe nach W. Diemair u. H. Häusser einen hemmenden Einfluß auf die Tributyrinspaltung mittels Pankreaslipase aus, während auch hier alle anderen Farbstoffe sich als unwirksam erwiesen haben. *Rhodamin B* hemmt ferner noch den diastatischen Abbau der Kartoffelstärke. Ob sich diese Farbstoffe auch im Organismus ungünstig auswirken, ist noch nicht erwiesen. Auf jeden Fall wäre es auf Grund der experimentellen Ergebnisse ratsam, sie zunächst als Lebensmittelfarbstoffe zurückzustellen, zumal sie bei den vorliegenden Untersuchungen schon bei einer Konzentration von 40 mg/l wirksam sind. Dies entspricht etwa der Farbstoffkonzentration, die zur Färbung von Lebensmitteln angewendet wird.

**Literatur.**

[1] 1. u. 2. Mitteilung. Diemair, W., u. H. Häusser: 3., 4. und 5. Mitteilung. Z. Unters. Lebensmittel **92**, 165, 403 (1951). — Diemair, W., u. W. Boekhoff: diese Z. **139**, 25, 35, 267 (1953). — [2] Struwe, H.: Liebigs Ann. Chem. **163**, 160 (1872). — [3] Willstätter, R., u. H. Weber: Liebigs Ann. Chem. **449**, 156 (1926). — [4] Kuhn, R., u. L. Braun: Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2370 (1926). — [5] Balls, A. R., u. W. S. Hale: J. biol. Chemistry **107**, 767 (1934); vgl. auch diese Z. **100**, 151 (1935). — [6] Jayle, M. F.: Bull. Soc. Chim. biol. **21**, 14 (1939). — [7] Davis, W. B.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 952 (1942). — [8] Derx, H. G.: Proceedings, Vol. XLV, 7/8 (1942). — [9] Purr, A.: Biochem. Z. **321**, 1 (1950). — [10] Diemair, W., u. H. Häusser: Diese Z. **122**, 12 (1941).

Prof. Dr. Dr. W. Diemair, Frankfurt a. M., Paul-Ehrlich-Straße 40.

---

Aus dem Anorganisch-analytischen Forschungslaboratorium der Chemischen Werke Albert, Wiesbaden-Biebrich.

**Ergänzung zu der Arbeit:**

# Beiträge zur analytischen Bestimmung der verschiedenen Phosphate nebeneinander I.

## Vorschlag zur Verbesserung der Pyrophosphatbestimmung nach Britske-Dragunow.

Von

**W. Dewald und H. Schmidt.**

*(Eingegangen am 8. Juli 1953.)*

In der vorgenannten Arbeit[1] wurde ein Vorschlag zur Verbesserung der Pyrophosphatbestimmung nach Britske-Dragunow[2] gemacht. Es wurde dort die Anwendung eines vom Titrationsverbrauch abhängigen Korrekturfaktors („Potentiometrierfaktors") empfohlen, der entweder aus einem Schaubild abzulesen oder jeweils durch 2 Titrationen von 0,1 n Salzsäure in An- und Abwesenheit von Zinksulfat zu ermitteln ist.

Die Methode hat 2 Schönheitsfehler:

1. Der Faktor, mit dem der unter Verwendung des „Potentiometrierfaktors" korrigierte Titrationsverbrauch multipliziert werden sollte, um die vorliegende Menge $Na_4P_2O_7$ zu erhalten, ist nicht der stöchiometrische.

2. Die Notwendigkeit, für jede Titration einen Korrekturfaktor aus einem Diagramm abzulesen, bzw. sich ihn experimentell zu ermitteln, bedingt für Reihenanalysen einen gewissen Zeitverlust.

Wir halten es deshalb für günstiger, an Stelle des variablen „Potentiometrierfaktors" und eines weiteren empirischen Faktors einen einzigen, allerdings ebenfalls vom Titrationsverbrauch abhängigen Faktor einzuführen, der in Tab. 2 (S. 360) angegeben ist.

*Tabelle 1.*

| Einwaage in mg | ml 0,1 n Natronlauge verbraucht | Gefunden % $Na_4P_2O_7$ nach 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| 100,0 | 7,22 | $96,0_1$ | $100,3_1$ | $99,8_2$ | $100,2_4$ |
| 194,1 | 14,37 | $98,4_5$ | $100,6_9$ | $100,1_6$ | $100,0_0$ |
| 200,0 | 14,77 | $98,2_0$ | $100,4_0$ | $99,8_9$ | $99,6_2$ |
| 300,0 | 22,31 | $98,8_9$ | $100,5_7$ | $100,0_8$ | $99,8_6$ |
| 355,3 | 26,47 | $99,0_6$ | $100,5_1$ | $100,0_4$ | $100,0_4$ |
| 400,0 | 29,85 | $99,2_3$ | $100,5_4$ | $100,0_3$ | $100,2_0$ |
| 497,2 | 37,10 | $99,2_2$ | $100,2_9$ | $99,7_3$ | $100,1_9$ |
| 500,0 | 37,31 | $99,2_3$ | $100,3_0$ | $99,7_5$ | $100,2_0$ |
| 600,0 | 44,72 | $99,1_1$ | $100,0_4$ | $99,5_3$ | $100,0_8$ |
| 663,5 | 49,30 | $98,8_0$ | $99,6_7$ | $99,1_8$ | $99,7_7$ |
| 700,0 | 52,05 | $98,8_8$ | $99,7_4$ | $99,2_6$ | $99,8_4$ |

Eine Zusammenstellung von Analysenergebnissen in Tab. 1, errechnet unter Verwendung 1. des stöchiometrischen, von Bell[3] angegebenen Faktors, 2. des stöchiometrischen Faktors und des „Potentiometrierfaktors", 3. des bisher empfohlenen Faktors 13,23 und des „Potentiometrierfaktors", 4. des aus Tab. 2 abzulesenden empirischen Faktors, zeigt, daß im letzten Fall die genauesten Ergebnisse erhalten werden.

Tabelle 2. *Empirische Faktoren.*

| Titrationsverbrauch ml 0,1 n Natronlauge | $F_{Na_4P_2O_7}$ | $\log F_{Na_4P_2O_7}$ | $F_{Pyro\text{-}P_2O_5}$ | $\log F_{Pyro\text{-}P_2O_5}$ |
|---|---|---|---|---|
| 6,5— 7,5 | 13,88 | 14 250 | 7,411 | 86 987 |
| 7,5— 8,5 | 13,78 | 13 930 | 7,356 | 86 667 |
| 8,5— 9,5 | 13,70 | 13 680 | 7,314 | 86 417 |
| 9,5—10,5 | 13,65 | 13 500 | 7,284 | 86 237 |
| 10,5—11,5 | 13,60 | 13 350 | 7,259 | 86 087 |
| 11,5—12,5 | 13,56 | 13 230 | 7,239 | 85 967 |
| 12,5—13,5 | 13,53 | 13 125 | 7,221 | 85 862 |
| 13,5—14,5 | 13,51 | 13 055 | 7,210 | 85 792 |
| 14,5—15,5 | 13,49 | 13 000 | 7,201 | 85 737 |
| 15,5—16,5 | 13,48 | 12 960 | 7,194 | 85 697 |
| 16,5—17,5 | 13,47 | 12 925 | 7,188 | 85 662 |
| 17,5—18,5 | 13,46 | 12 890 | 7,182 | 85 627 |
| 18,5—19,5 | 13,45 | 12 860 | 7,177 | 85 597 |
| 19,5—20,5 | 13,44 | 12 835 | 7,173 | 85 572 |
| 20,5—22,5 | 13,43 | 12 815 | 7,170 | 85 552 |
| 22,5—50,0 | 13,43 | 12 800 | 7,167 | 85 537 |

*Arbeitsvorschrift.* Man löse eine angemessene Menge der zu untersuchenden Substanz (entsprechend 100—700 mg $Na_4P_2O_7$, — zur Reinheitsprüfung von technischem $Na_4P_2O_7$ empfiehlt sich eine Einwaage von 0.5 g), die frei sein muß von Poly- und sogenanntem Hexametaphosphat, in einem 250 ml-Becherglas mit 100 ml $H_2O$, füge das Glas in die Apparatur zur potentiometrischen Titration ein, rühre etwa 2 min lang und gebe 1 n Salzsäure bzw. 0.1 n Natronlauge zu, bis der $p_H$-Wert genau

3,8 beträgt, füge 70 ml 12,5%ige Lösung von $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$, die vorher ebenso auf $p_H$ 3,8 gebracht worden war, zu, rühre etwa 2 min und titriere dann langsam mit 0,1 n Natronlauge auf $p_H$ 3,8 zurück. Um den Pyrophosphatgehalt in mg $Na_4P_2O_7$ bzw. mg Pyro-$P_2O_5$ zu erhalten, multipliziere man den Verbrauch an 0,1 n Natronlauge (in ml) mit dem für diesen Bereich gültigen, aus Tab. 2 abzulesenden Faktor $F_{Na_4P_2O_7}$ bzw. $F_{Pyro\text{-}P_2O_5}$. Wie aus Tab. 2 hervorgeht, kann man mit einem vom Titrationsverbrauch unabhängigen Faktor arbeiten, wenn man die Einwaage so wählt, daß 300—700 mg $Na_4P_2O_7$ vorliegen. Man erhält dann den Pyrophosphatgehalt in mg $Na_4P_2O_7$ bzw. mg Pyro-$P_2O_5$, wenn man die bei der Titration verbrauchte Menge 0,1 n Natronlauge (in ml) mit dem Faktor 13,43 bzw. 7,167 multipliziert.

Bei Gegenwart größerer Mengen Orthophosphat (über 15% des Gesamt-$P_2O_5$-Gehalts) erhält man wesentlich zu hohe Werte (vgl. [4]). Man kommt hier zu größenordnungsmäßig richtigen Werten unter Verwendung des abgerundeten Faktors 13 ($Na_4P_2O_7$) bzw. 7 (Pyro-$P_2O_5$). Genaue Ergebnisse liefert die gravimetrische Methode[5].

## Literatur.

[1] Dewald, W., u. H. Schmidt: Diese Z. **134**, 17 (1951). — [2] Britske, E. V., u. S. S. Dragunow: J. Chem. Ind. (Moskau) **4**, 49 (1927); vgl. diese Z. **74**, 313 (1928). — [3] Bell, R. N.: Analyt. Chemistry **19**, 97 (1947). — [4] Dewald, W., u. H. Schmidt: Fette und Seifen **54**, 679 (1952). — [5] Schmidt, H., u. W. Dewald: Fette und Seifen **55**, 19 (1953).

Dr. W. Dewald, Wiesbaden-Biebrich, Elise-Kirchner-Str. 20.

# Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

## I. Allgemeine analytische Methoden, analytische Operationen, Apparate und Reagenzien.

**Literatur.** Philip W. West, Maurice M. Vick und Arthur L. le Rosen: *Qualitative analysis and analytical chemical separations.* XII, 223 Seiten und 13 Abbildungen. The MacMillan Company, New York. Preis $ 3,75.

Bemerkenswert an diesem Buch ist die Darstellung eines Analysenganges der üblichen bekannten Kationen unter Vermeidung von Schwefelwasserstoff zur Gruppentrennung. Zunächst werden $Ag^+$ und $Hg^{++}$ in heißer Lösung als Chloride abgetrennt, dann wird die Lösung mit benzoesaurem Natrium und Ammonium auf $p_H$ 3—4 eingestellt und durch Erhitzen werden $Sn^{++}$, $Bi^{3+}$, $Sb^{3+}$, $Fe^{3+}$, $Al^{3+}$ und $Cr^{3+}$ gefällt. Durch Zusatz von NaF werden sodann $Pb^{++}$, $Mg^{++}$, $Ba^{++}$, $Sr^{++}$ und $Ca^{++}$ und im Filtrat durch Zusatz von NaOH $Mn^{++}$, $Fe^{++}$, $Hg^{+}$, $Cu^{++}$, $Co^{++}$, $Ni^{++}$ und $Cd^{++}$ abgeschieden. Im restlichen Filtrat werden $Sn^{++}$, $As^{3+}$ und $Zn^{++}$ nachgewiesen. Als zusätzliche Reagenzien für Gruppennachweise der Anionen finden $MnCl_2$ und $Cd(NO_3)_2$ Anwendung. Nachdem im praktischen Teil bereits einige physikalisch-chemische Grundlagen der Umsetzungen mitgeteilt werden, wird in einem theoretischen Teil eine ausführliche Darstellung der wissenschaftlichen Grundlagen der qualitativen Analyse gegeben.

I. M. Kolthoff and E. B. Sandell: *Textbook of quantitative inorganic Analysis.* 3. Auflage. XV, 759 Seiten und 131 Abbildungen. The MacMillan Company, New York. 1952. Preis $ 5.—.

Das bekannte und weitverbreitete Lehrbuch liegt nunmehr in 3. Auflage vor[1]. Veränderungen gegenüber der 2. Auflage sind vor allem in den Kapiteln über physikalische und physikalisch-chemische analytische Methoden, über quantitative Trennungen und über das Massenwirkungsgesetz durch Einfügung von Brönsteds Theorien über Säuren und Basen erfolgt. Trotz der außerordentlichen Entwicklung der technischen Ausgestaltung vieler Verfahren glaubten die Verfasser die frühere Darstellung weitgehend aufrecht erhalten zu sollen, weil nach ihrer im Vorwort zum Ausdruck gebrachten Ansicht die Kenntnis der theoretischen und praktischen Grundlagen der klassischen analytischen Chemie auch weiterhin entscheidend für die spätere chemische Tätigkeit geblieben ist. Durch diesen Hinweis ist der Inhalt des Buches wohl am besten umrissen. Daß dabei sowohl praktische wie theoretische Fragen eingehend und umfassend zur Darstellung gekommen sind, ist bei den großen Erfahrungen der Verfasser auf dem Gebiet der analytischen Chemie selbstverständlich. Das Buch wird daher bei jüngeren wie älteren Chemikern immer neue Freunde gewinnen.

Olof Samuelson: *Ion exchangers in analytical chemistry.* XVII. 291 Seiten und 47 Abbildungen. Almqvist & Wiksell, Stockholm, und John Wiley & Sons, Inc., New York 1952. Preis etwa DM 40,—.

Der schwedische Verfasser, der selbst wesentlichen Anteil an der Entwicklung von analytischen Methoden unter Verwendung von Ionenaustauschern hat, hat in diesem Buch einen sehr begrüßenswerten Überblick über die Entwicklung und den augenblicklichen Stand dieses Zweiges der analytischen Chemie gegeben. Dabei ist jedes Kapitel mit einer sehr sorgfältigen Literaturzusammenstellung versehen, so daß eine bequeme Benutzung der Originalliteratur gewährleistet ist. Der größte Teil der Ausführungen ist naturgemäß der Besprechung der einzelnen Analysenmethoden gewidmet, wobei zunächst die Ermittlung des gesamten Salzgehaltes und die Entfernung störender Ionen bei der Analyse anorganischer Stoffe erörtert wird. Nach einem kurzen Hinweis auf die Anwendung von Ionenaustauschern bei Kolloiden und hochpolymeren Elektrolyten folgt dann die Isolierung von Bestandteilen, die nur in Spuren vorhanden sind. In besonderen Abschnitten werden anschließend die Verwendung in der qualitativen Analyse sowie zur chromatographischen Trennung anorganischer Stoffe mitgeteilt. Sehr ausführlich ist weiterhin die Besprechung der Analyse von organischen Stoffen wie Aldehyden und Ketonen, Zuckern, Alkaloiden, Aminosäuren, Eiweiß, Vitaminen, antibiotischen Stoffen usw. Vorher werden die Eigenschaften der Ionenaustauscher und ihr Verhalten unter verschiedenen Bedingungen behandelt, um anschließend die Technik ihrer Anwendung zu besprechen. Die Darstellung ist klar und übersichtlich, die Ausstattung ist gut, so daß das Buch allen Interessenten warm empfohlen werden kann.

H. Schwiegk unter Mitarbeit von J. D. Abbatt, H. W. Bansi, J. Becker, Th. Bersin, H. Billion, H. D. Cremer, M. Ebert, E. M. K. Geiling, L. Heilmeyer, W. Herr, G. Höhne, O. Hug, W. Hunzinger, F. E. Kelsey, L. F. Lamerton, K. Lang, N. Lang, F. Linder, R. W. Manthei, H.G. Mehl, J. H. Müller, H. Muth, F. Odenthal, H. Oeser, F. Ruf, K. E. Scheer, K. Schmeiser, G. Schubert, K. Starke, A. Vannotti, P. G. Waser, H. P. Wolf: *Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie.* XVI, 842 Seiten mit 294 Abbildungen. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1953. Preis DM 136.—.

[1] Besprechung der 1. Auflage vgl. diese Z. **105**, 364 (1936).

Das Buch gliedert sich in die Teile: Allgemeine physikalische, chemische und biologische Grundlagen — Radioisotope für Spurenuntersuchungen in Physiologie, Pharmakologie und Diagnostik — Therapie mit radioaktiven Isotopen. Bei der großen Fülle des mitgeteilten Materials muß auf das Eingehen auf Einzelheiten verzichtet werden. Es soll nur erwähnt werden, daß in dem Buch das bisher mitgeteilte Tatsachenmaterial über die Anwendung der künstlichen radioaktiven Isotope auf dem Gebiet der Physiologie, der Pharmakologie, der ärztlichen Diagnostik und Therapie zusammengefaßt werden soll. Zugleich sollen die Kenntnisse vermittelt werden, um ein zuverlässiges Arbeiten auf diesem Gebiet zu ermöglichen, wobei besonders ausführlich auch die zu ergreifenden Schutzmaßnahmen erörtert werden. Da die einzelnen Arbeiten von anerkannten Fachkräften bearbeitet wurden, das ausländische Schrifttum weitgehend herangezogen wurde (eine Reihe von Kapiteln wurde von Ausländern geschrieben), so ist eine Zusammenstellung entstanden, die auf Grund der ausgezeichneten Ausstattung des Buches weite Verbreitung finden wird. Sie ist nicht nur von Interesse für Biologen und Ärzte, sondern z. B. auch für Beauftragte für den entstehenden Luftschutz sowie die Bearbeiter von Wasser- und Abwasserfragen. A. Gehring.

**Spektralanalyse.** In einer Arbeit über *Fortschritte der technischen Emissionsspektralanalyse* gibt E. Fitzer[1] einen zusammenfassenden Überblick über den derzeitigen Stand der apparativen Entwicklung spektrochemischer Geräte. Hierbei wird insbesondere auf die neueren amerikanischen Apparaturen eingegangen.

*Über quantitative spektrographische Analysenverfahren mit dem* Hilger-*Spektrographen E 492* berichtet G. Zanini[2], der die spektrochemische Ausstattung seines Laboratoriums, die im wesentlichen aus Hilger-Geräten besteht, eingehend beschreibt. Für die betriebsmäßige Analyse von Stahlproben werden zylinderförmige Elektroden mit Gegenelektroden aus Reinaluminium im kondensierten Funken untersucht. Ausführung und Auswertung der Analysen erfolgt in der üblichen Weise. Der prozentuale Fehler liegt für die verschiedenen Elemente je nach dem Gehalt zwischen ± 15 und 3,1%. Beim Vergleich mit chemischen Methoden wird der Unterschied im erforderlichen Zeitaufwand für die Bestimmung der Analysenbestandteile besonders hervorgehoben.

W. Pasveer[3] behandelt *spektrographische Berechnungen mit Hilfe von Fluchtlinientafeln*. Er geht zunächst an Hand einiger Beispiele auf die Grundlagen der Nomographie ein und zeigt dann, wie die nach einer Seidel-Transformation gestreckte Schwärzungskurve bzw. die Eichkurve im Nomogramm auf einen einzigen Punkt reduziert werden kann. Die Darstellung der *Schwärzungs*kurve liefert so einen charakteristischen Nomogrammpunkt der *Platte*, während das Nomogramm der *Eich*kurve einen entsprechenden *Eich*punkt liefert. Man kann nun beide Fluchtlinientafeln miteinander koppeln, indem man die entsprechend normierten Intensitätsskalen zur Deckung bringt. Damit lassen sich die in der Spektrochemie üblichen Berechnungen ohne Schwierigkeit ausführen. Der Verf. hat seine Galvanometerskala im Mikrophotometer direkt in Seidel-Schwärzungen geeicht. J. van Calker.

H. Bückert[4] verweist auf die *Bedeutung moderner starker Anregungsgeräte* für die meist nur mit mittleren Spektrographen ausgerüsteten europäischen Laboratorien und schildert anschließend neue, von der „Optica" entwickelte Apparaturen für die

[1] Österr. Chemiker-Ztg. **53**, 1 (1952). Inst. f. anorg. chem. Technologie der T. H. Wien.

[2] Spektrochim. Acta (London) **5**, 158 (1952). Fiat - Ferriere Piemontesi (Italien).

[3] Spectrochim. Acta (London) **5**, 163 (1952). „Comtoir Lyon-Alemand", Paris.

[4] Spectrochim. Acta (London) **5**, 5 (1952). — Optica, Soc. p. Az., Mailand.

Anregung, Aufnahme und Auswertung von Spektren. Es sind dies 1. ein gesteuerter Funkenerzeuger mit einer Maximalkapazität von 12000 pF, der verglichen mit älteren Geräten eine bedeutende Verkürzung von Vorfunk- und Belichtungszeit gestattet, 2. ein Abreißbogengerät, dessen Leistung 15 Amp bei 300 V beträgt und dessen mechanische Schalteinrichtung Brenndauern zwischen $^1/_{20}$ und 2 sec und Ruhepausen zwischen $^2/_{10}$ und $5^1/_2$ sec in 20 verschiedenen Verhältnissen ermöglicht, 3. ein Doppelprojektor mit Schnellphotometer sowie 4. der Quarzspektrograph B 4, ein großer FÉRY-Spektrograph mit einem Arbeitsbereich vom 2000—10000 AE. Die Lineardispersion dieses Geräts, das eine Kamerabrennweite von 3600 mm aufweist, beträgt bei 2200 AE —1,0 AE/mm, bei 2500 AE —1,5 AE/mm, bei 2800 AE —1,8 AE/mm und bei 3200 AE —5,2 AE/mm.

A. GATTERER[1] gibt einen *Überblick über die Erfordernisse eines für spektrochemische Arbeiten bestimmten Spektrographen* und erörtert anschließend, inwieweit Prismen- und Gitterspektrographen diesen Ansprüchen gerecht werden können. Als Vorteile der Prismenspektrographen werden hohe Lichtstärke, weitergehende Freiheit von Störlinien, große Dispersion und Auflösung im kurzwelligen U.V. und große Haltbarkeit des Prismen- und Linsenmaterials erwähnt. Diesen Vorzügen stehen die Notwendigkeit, für verschiedene Spektralbereiche verschiedenes Prismen- und Linsenmaterial zu verwenden, die stark wellenlängenabhängige Dispersion, die hohen Streulicht-, Absorptions- und Reflexionsverluste und die — besonders bei Mehrprismenapparaten — umständliche oder komplizierte Mechanismen bedingende Bereichumschaltung als Nachteile gegenüber. Für die Gitterspektrographen spricht der große mit einer Einstellung erfaßbare Spektralbereich z. B. 2000 AE bei einer Dispersion von 5 AE/mm, das normale Spektrum und die über den ganzen Spektralbereich vorhandene hohe Auflösung. Auch hinsichtlich der Justierung und der Anschaffungskosten sind die Gittergeräte etwas im Vorteil. Als nachteilig werden die unter Umständen geringere Lichtstärke, das Auftreten von Geistern, die Überlagerung der Spektren verschiedener Ordnung sowie der Astigmatismus erwähnt; der Verfasser weist jedoch darauf hin, daß diese Nachteile bei modernen Geräten nicht mehr sehr ins Gewicht fallen, daß insbesondere der Astigmatismus durch Anwendung der WADSWORTH-Montierung vermieden werden kann. A. GATTERER faßt seine Erfahrungen dahingehend zusammen, daß für quantitative Arbeiten der Gitterspektrograph, für qualitative Spurensuche hingegen der Prismenspektrograph den Vorzug verdient.

G. BRUCELLE[2] berichtet über *die Veränderung des I. V. von Linienpaaren bei Vergrößerung der Kapazität, Erhöhung der Ladespannung sowie der Selbstinduktion* des zur Anregung verwendeten gesteuerten Funkenerzeugers. Er stellt fest, daß entsprechend den Erwartungen bei Erhöhung von C bzw. $U_L$ die höheren Anregungszustände, d. h. die Linien der Ionen bzw. beim Vergleich von gleichartigen Linien die mit höherer Anregungsspannung begünstigt werden. Eine Erhöhung der Selbstinduktion wirkt in umgekehrtem Sinne. Eine Ausdehnung der Versuche auf den Bogen ergab, daß auch bei einer Erhöhung der Bogenstromstärke vorzugsweise die Linien funkenähnlichen Charakters gewannen. Als Versuchsmaterial dienten unlegierter Stahl (I. V Fe/Fe), niedrig legierter Stahl (mit Ni und Cr), Duraluminium sowie eine Zamak-Legierung. Die Apparatur bestand aus einem gesteuerten Funkenerzeuger (Dürr), einem Qu 24 sowie einem Schnellphotometer von Zeiss. Der Verfasser beschäftigt sich ferner mit der Bestimmung kleiner Gehalte von Si, Mn, Ni, Cr, Mo und V, für welche er die Anwendung des Lichtbogens empfiehlt.

[1] Spectrochim. Acta (London) **5**, 30 (1952). Astrophys. Lab. der Vatikanischen Sternwarte, Castel Gandolfo.

[2] Spectrochim. Acta (London) **5**, 11 (1952). Lab. Central de l'Armement, Paris.

*Die spektrochemische Analyse ist* — sofern man von den modernen direktmessenden Einrichtungen absieht — *im Gebiet der höheren Konzentrationen im allgemeinen der chemischen Analyse unterlegen.* In der Arbeit von W. Seith und A. Kottmann[1] wird jedoch am Beispiel einer Metalldiffusion gezeigt, daß die höhere Genauigkeit der chemischen Verfahren überflüssig ist, wenn andere für die Versuchsauswertung erforderliche Größen nicht genau genug gemessen werden können. Die Verfasser untersuchten die gegenseitige Diffusion von Nickel und Kobalt: Hierzu wurden ein Nickel- und ein Kobaltstab mit planen Endflächen aneinander gelegt und 8 Tage lang auf 1400 erhitzt, wobei Kobalt in das Nickelstäbchen und umgekehrt Nickel in das Kobaltstäbchen eindrang. Von der ursprünglichen Grenzfläche, in deren Nähe eine Legierung aus gleichen Teilen Kobalt und Nickel vorlag, ausgehend wurden 0,02—0,05 mm starke Schichten abgedreht und die Drehspäne (10—40 mg) nach Auflösen in Salpetersäure und Einstellen der Lösung auf eine Konzentration von 120 mg Legierung je Kubikzentimeter nach dem Verfahren von Scheibe-Rivas untersucht.

Der absolute Fehler der Spektralanalyse ist nun zwar im Gebiet hoher Konzentrationen — also in der Nähe der ursprünglichen Grenzfläche Co/Ni — am größten; er wirkt sich jedoch weniger auf den Wert der Diffusionskonstanten aus als die unvermeidlichen, in diesem Gebiet ebenfalls maximalen Fehler in der Messung der Schichtabstände von der Grenzfläche. Eine Erhöhung der spektralanalytischen Genauigkeit wäre also nur bei gleichzeitiger Verfeinerung der Messung der Abstände sinnvoll.

F. X. Mayer[2] bespricht *Anwendungsmöglichkeiten der Spektralanalyse bei kriminalistischen Aufgaben.* Als Beispiele aus der Praxis schildert er unter anderem die Aufklärung von Panzerschrank- bzw. Kasseneinbrüchen sowie die Identifizierung von gestohlenen Geräten. Auch auf die Bedeutung der spektrochemischen Analyse bei der Untersuchung von Schußverletzungen sowie bei allgemeinen forensischen Untersuchungen insbesondere bei Exhumierungen wird hingewiesen. — Unter dem Gesichtspunkt der spektrochemischen Methodik bietet die Arbeit keine Besonderheiten: Der Verfasser bringt die Proben auf Hilfselektroden aus Reinstkohle oder Elektrolytkupfer und regt im mechanischen Abreißbogen (100 V, 3—10 Amp je nach Probe) an. Angaben über Bogenlänge, Brenndauer sowie Dauer der Unterbrechung werden in der Arbeit nicht gemacht. Die Aufnahmen erfolgen bei 5 $\mu$ Spaltbreite mit Hilfe eines Qu 24 auf den hochempfindlichen Super-Fulgur-Platten von Guilleminot. Die Bogenstrecke wird entweder mit Hilfe einer Quarzlinse f = 80 mm auf dem Spektrographenspalt abgebildet oder so nahe vor dem Spalt aufgestellt, daß der Kollimator ausgeleuchtet ist. — Für quantitative Untersuchungen bevorzugt Mayer das Verfahren von Scheibe-Rivas; als Hilfselektroden dienen wiederum Ruhstrat-Kohlen oder Stifte aus eloxiertem Reinaluminium. Zur Anregung wird ein Funkenerzeuger nach Feussner mit C = 3000 pF, L = 0,8 mH, $U_L$ = 8 kV bei 2,4 mm Elektrodenabstand verwendet. Den Schluß der Arbeit bildet die Schilderung der Aufklärung einer Vergiftung durch Benzin mit Hilfe der Absorptionsspektralanalyse.

D. M. Smith[3] berichtet in einer vorläufigen Mitteilung über die bei Johnson, Matthey & Co., Ltd., unternommenen Versuche zur *Herstellung und analytischen Kontrolle von Kupfer-Eichproben.* Vorgesehen und teilweise fertiggestellt sind folgende Reihen von Eichproben: Serie A: Cu mit 0,05; 0,02; 0,01; 0,005 usw. bis herab zu 0,0001% Al, Sb, Bi, Cr, Ga, Pb, Ag und Sn. — Serie B: Cu mit 0,05; 0,02;

[1] Spectrochim. Acta (London) **5**, 36 (1952). Phys.-chem. Inst. Univ. Münster/Westfalen.

[2] Spectrochim. Acta (London) **5**, 63 (1952). Inst. gerichtl. Med., Univ. Wien.

[3] Spectrochim. Acta (London) **5**, 1 (1952). Johnson, Matthey & Co. Ltd., Wembley, (England).

0,01 usw. bis herab zu 0,0001% Co, Fe, Mn, Ni und Si. Serie C: Cu mit 0,05; 0,02; 0,01 bis herab zu 0,001% As, Be, P, Se, Te und Zn. — Von diesen Legierungen wurden die Proben mit 0,05% Verunreinigung chemisch analysiert, die Proben mit kleinerem Gehalt an Verunreinigungen hingegen durch Verdünnen abgewogener Mengen der analysierten Proben mit spektroskopisch reinem Kupfer „Matthey" im Vacuum erschmolzen. Sowohl das Matthey-Kupfer als auch die erschmolzenen Eichproben wurden zwecks Prüfung auf Verunreinigungen bzw. auf Verdünnungsfehler spektrochemisch analysiert.

Die Untersuchung erfolgte nach der vom Verfasser entwickelten, besonders empfindlichen „Arc-globule-Methode": Eine kleine Kugel aus der zu prüfenden Probe wurde auf eine als Kathode geschaltete Reinstkupferelektrode gebracht und unter Verwendung einer Gegenelektrode aus reinstem Graphit in einem mittels der Hilgerschen Constant-Current-D. C.-Source erzeugten 5,6 Amp-Lichtbogen angeregt. Die Bogenstrecke wurde mit Hilfe eines Konkavspiegels so auf einer Blende abgebildet, daß nur die im Bereich der Kathodenglimmschicht emittierte Strahlung in den Spektrographen eintrat. Zur Aufnahme von Proben der Serien A und B diente der Littrow-Spektrograph von Hilger mit den Bereichen 2820—5000 und 2385—3300 AE unter Verwendung von Ilford-Ordinary-Plates während die Proben der C-Serie unter Verwendung von Ilford Q 2-Platten mit Hilfe des mittleren Spektrographen geprüft wurden. Vorfunk- bzw. Belichtungszeit betrugen 10 sec bzw. 60 sec. Ausgemessen und unter Berücksichtigung von Schwärzungskurve und Untergrund ausgewertet wurden die nachstehenden Linienpaare: Serie A: Bi 3067,716/Cu 3088,132. Ga 4172,056/Cu 4104,226. Ga 2943,637 Cu 3088,132. Pb 3639,580/Cu 3643,631. Pb 2833,069 Cu 2858,734. Ag 3382,891 Cu 3402,244. Sn 2839,989/Cu 2858,734. Serie B: Co 3894,081 Cu 4104,226. Fe 3020,630 Cu 3088,132. Mn 4030,755/Cu 4104,226. Ni 3050,819/Cu 3088,132. Serie C: As 2349,84 Cu 2363,21. Be 2348,610/Cu 2363,21. P 2553,28/Cu 2363,21. Te 2385,76 Cu 2363,21.

Ganz abgesehen von der Bedeutung zuverlässiger Eichproben für die spektrochemische Praxis ist die Arbeit von Smith ein sehr wertvoller Beitrag zur spektrochemischen Analyse von Reinkupfer. W. Schuhknecht.

*Beobachtungen über die spektrale Nachweisempfindlichkeit der Verunreinigungen von Blei* werden von E. Arreghini und T. Songa[1] mitgeteilt. Die Verf. bestimmen systematisch die Nachweisbarkeitsgrenze für eine Reihe von Elementen in Blei und beziehen diese auf den Wert der Kupferverunreinigung. Auf Grund der Unterschiede in der Nachweisempfindlichkeit kommen sie zu einer Gruppierung der Elemente in drei Klassen, die der Hume-Rotheryschen Einteilung des Periodischen Systems entspricht. In der ersten Gruppe steigt die Nachweisempfindlichkeit der Elemente Ag, Cu, Ni, Au, Pt mit dem Wert der Verdampfungswärme. In der zweiten Gruppe, die die Elemente Zn, Cd, Hg, (Ga, In), Tl, Sn, Pb, umfaßt und in der dritten Gruppe mit den Elementen (C, Si, Ge, N, P), As, Sb, Bi, (O, S, Se, Po), Te werden Wechselwirkungen mit Sauerstoff vermutet. Die geringe Empfindlichkeit der Elemente der dritten Gruppe glauben die Verfasser auf die Lage der empfindlichsten Nachweislinien im fernen Ultraviolett zurückführen zu können. In einer Tabelle werden, ähnlich der de Gramontschen Indizierung, die Linien der verschiedenen Elemente für das neutrale und das einfach ionisierte Atom nach steigenden Empfindlichkeiten geordnet wiedergegeben. J. van Calker.

V. Brustier, Pierette Cornec und H. Triche[2] entwickelten ein Verfahren zur *spektrographischen Bestimmung von Blei in Blut*, das im Gegensatz zu den bisher

[1] Spectrochim. Acta (London) **5**, 114 (1952). Fabr. Accumulatori, Hensemberger, Monza (Italien).

[2] C. R. Acad. Sci. (Paris) **234**, 2367 (1952).

üblichen Methoden keine chemische Zerstörung, sondern lediglich ein Eintrocknen des Blutes nach Zusatz von Leitlösung erfordert. Als Leitelement verwenden sie Zinn, da dessen Linie 2840 AE mit der empfindlichen Bleilinie 2833 AE spektral benachbart ist und seine dem Blei ähnliche Flüchtigkeit bei der im Lichtbogen möglichen fraktionierten Destillation günstig erscheint. Zur Analyse bringen die Verf. eine Probe des nach Zusatz von Leitlösung eingetrockneten, durch Verreiben in der Reibschale homogenisierten Blutes auf eine Graphitelektrode und regen unter Verwendung einer zweiten Graphitelektrode im hochfrequenzgezündeten Wechselstromabreißbogen (PFEILSTICKER-Bogen) an. Zur Herstellung der Eichproben dient eine synthetische, nach Angabe von FABRE und PETIT aus den anorganischen Bestandteilen des Blutes hergestellte Lösung; 5 ml-Proben dieser synthetischen Lösung werden jeweils mit der gleichen Zinnsalz-, aber wechselnden Bleisalzmengen versetzt, nach Zusatz von 0,1 g reinem Graphitpulver zur Trockne gedampft und nach Homogenisieren als Eichproben verwendet. Die Auswertung von Eich- und Probespektren erfolgte mittels eines Registrierphotometers. Bei Verwendung einer einmalig aufgestellten Eichkurve wichen die Ergebnisse im Mittel 10%, bei Aufnahme von Proben und Eichproben auf der gleichen Platte jedoch nur 5% vom Sollwert ab.

G. H. AYRES und E. W. BERG[1] diskutieren die Schwierigkeiten, welche die chemische Bestimmung der *Platinmetalle Palladium, Platin, Iridium und Rhodium* bietet. Sie kommen zu dem Schluß, daß zur Bestimmung von Spuren eines dieser Metalle neben einem großen Überschuß der übrigen nur spektrochemische Verfahren geeignet sind und beschreiben die von ihnen entwickelte spektrochemische Untersuchungsmethode. Verf. verfahren etwa folgendermaßen: Einwaagen der Proben werden gelöst und nach Zusatz des als Leitelement dienenden Kobalts auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Zur Aufnahme der Lösungen wird die von C. FELDMAN[2] vorgeschlagene „Arbeitstechnik der porösen Elektroden" verwendet; die zu untersuchende Lösung wird jedoch — abweichend von FELDMAN — erst nach einem 10 sec dauernden Vorglühen der Elektroden in die 3 mm weite, bis auf 0,6 mm vom unteren Ende durchgeführte Bohrung der oberen Elektrode (6 mm Durchmesser, 4,8 cm Länge) eingefüllt. Durch das Verglühen soll eine gleichbleibende Porosität der „Porous Cup Electrode" erreicht werden. Das Anfunken erfolgt unter Verwendung eines 3 mm starken, zugespitzten Graphitstäbchens als — untere — Gegenelektrode mit einer kondensierten Funkenentladung mittlerer Energie (Elektrodenabstand = 4 mm). Belichtet wird 3 sec nach Beginn des Funkenübergangs 2 mal 90 sec lang. Als Aufnahmegerät dient der 1,5 m-Spektrograph von ARL.; die Spektren werden bei 60 $\mu$ breitem Spalt auf Eastman-Spektrum-Analysis-Film Nr. 1 aufgenommen und mit dem ARL.-Comparator-Densitometer photometriert.

Vor Durchführung von laufenden Untersuchungen waren zunächst Schwärzungskurven des Filmmaterials aufzunehmen und Eichkurven, welche das Intensitätsverhältnis der Analysenlinien zur Leitlinie in Abhängigkeit von der Konzentration wiedergegeben, zu bestimmen. Diese Eichkurven dienten zu allen weiteren Bestimmungen, da weder eine gegenseitige Beeinflussung der Edelmetalle innerhalb des untersuchten Konzentrationsbereichs — für Palladium lag er zwischen 5 und 160 Teilen je Million — noch eine zeitliche Veränderung der Eichkurven festgestellt werden konnte. Verwendet wurden die Linienpaare: Rh 3323,1 — Co 3354,4 AE; Ir 3220,7 — Co 3354,4 AE; Pt 2830,3 — Co 3354,4 AE; Pd 3242,7 — Co 3354,4 AE.

[1] Analyt. Chemistry **24**, 465 (1952). Univ. of Texas, Austin, Tex. (USA).
[2] Analyt. Chemistry **21**, 1041 (1949); vgl. diese Z. **132**, 357 (1951).

Der mittlere Fehler der Bestimmungen ergab sich aus umfangreichen Versuchsreihen zu 2,8%. Bemerkenswert ist die Feststellung, daß die zunächst vorgenommene Untergrundkorrektur bei entsprechender Eichung unterbleiben kann.
W. Schuhknecht.

*Über die Methodik bei der spektrochemischen Reinheitsprüfung von reinsten Metallen, insbesondere von Edelmetallen* berichtet W. Koehler[1]. Nach einer Einleitung über die spektrochemische Spurensuche im allgemeinen werden die Probenform, die Arten der Anregung (Flamme, Bogen, Funken), die spektrographischen Geräte und die Auswertung (Zwei-Linien-Verfahren, Verfahren der „homologen Linienpaare" von Gerlach, Verfahren von Gatterer ohne analysierte Testproben) behandelt. Als Anwendungsbeispiele werden die Reinheitsprüfung von Platin, der Platinmetalle, von Silber und schließlich der Nachweis von C, Ca, Mg und Si in Edelmetallen ausführlich behandelt. Für den Nachweis von Verunreinigungen bis zu etwa 0,01% im Platin kann die Funkenanregung dienen. Mit der Bogenentladung (Pfeilsticker-Abreißbogen oder Gleichstrom-Dauerbogen) läßt sich die Nachweisgrenze bei den meisten Elementen erheblich herabsetzen. In Zahlentafeln sind die geeignetsten ungestörten Nachweislinien, die Nachweisgrenzen und die homologen Linienpaare zusammengestellt. Auffallend sind die geringen Nachweisempfindlichkeiten von Pb und Zn im Platin trotz der hohen Dampfdrucke dieser Metalle. bemerkenswert ist auch die sehr schwere Nachweisbarkeit von Iridium im Platin; es läßt sich nur bis zu etwa 0,01% ermitteln, während noch 0,0001% Ag festzustellen ist. Die Nachweisempfindlichkeit des Iridiums kann durch Anreicherung auf chemischem Wege auf 0,001% gesteigert werden, damit gehen aber zwei Hauptvorteile des spektralanalytischen Verfahrens, nämlich die Schnelligkeit und der geringe Materialverbrauch verloren. A. Kurtenacker.

*Für die spektrographische Analyse stark radioaktiven α-strahlenden Materials* entwickelten J. G. Conway und M. F. Moore[2] eine handhabungssichere Funken- und Lichtbogenkammer. Der Gefahr einer gesundheitlichen Schädigung durch zerstäubende radioaktive Stoffe wird durch den Einbau des Gerätes in eine gasdichte Kammer, sog. „glove-boxes", und durch Absaugen und Filtern des Luftstromes begegnet. Der technische Aufbau der Apparatur wird eingehend beschrieben. Es wird mitgeteilt, daß beispielsweise 100 μg Americium (d. h. ~ $10^8$ Zerfälle pro Minute) befunkt wurden und daß keine Aktivität im Raum nachweisbar war. Der Großteil der Aktivität wurde im Luftfilter wiedergefunden. W. Herr.

**Zur Fällung von leicht filtrierbaren Sulfidniederschlägen** im Analysengang ohne Belästigung durch $H_2S$-Geruch empfehlen E. Wiberg und R. Bauer[3] *Ammoniumthiocarbaminat* als Reagens[4]. Das Salz zerfällt in saurer Lösung unter Bildung von Kohlenoxysulfid ($NH_2COS^- + 2\,H^+ \rightarrow NH_4^+ + COS$), das seinerseits in wäßriger Lösung mit $H_2S$ im Gleichgewicht steht ($COS + H_2O \rightleftharpoons CO_2 + H_2S$). Der Schwefelwasserstoff wird unter Rückbildung der $H^+$-Ionen zur Sulfidfällung verbraucht ($Me^{++} + H_2S \rightarrow MeS + 2\,H^+$). Die ursprüngliche Wasserstoff-Ionenkonzentration bleibt also erhalten, wenn vermieden wird, daß nach der ersten Gleichung gebildetes COS entweicht. Die günstigste $H^+$-Ionenkonzentration für die Fällung der Metalle

[1] Metall **7**, 422 (1953). Spektrochem. Labor. der Degussa, Hanau.

[2] Analyt. Chemistry **24**, 463 (1952). Radiation Lab., Univ. of California, Berkeley, Calif. (USA).

[3] Angew. Chem. **64**, 270 (1952). Univ. München.

[4] Andere Vorschläge dieser Art vgl. u. a. diese Z. **134**, 116 (1951/52); **137**, 127 (1952/53).

der $H_2S$-Gruppe ist diejenige, die 0,2—0,5 n Salzsäure entspricht. Nach der Fällung kann der Reagensüberschuß leicht durch Erwärmen der sauren Lösung beseitigt werden. – Fällung der $H_2S$-Gruppe in Gegenwart der $(NH_4)_2S$-Gruppe. Man löst 2 g Substanz in starker Salzsäure und engt die kochende Lösung auf die Konzentration der konstantsiedenden Salzsäure (6 n = 20% HCl) bei einem Volum von 10 ml ein. 1 ml davon (= 200 mg Substanz) verdünnt man dann mit Wasser auf 25 ml (neue Konzentration der Salzsäure 0,24 n; $p_H$ = 0,6). In der Kälte versetzt man mit 400 mg Ammoniumthiocarbaminat in kleinen Anteilen, so daß keine Gasentwicklung von unzersetztem COS eintritt. Die in den nächsten 15 min ausfallenden hellfarbigen Metallthiocarbaminate gehen unter $CO_2$-Entwicklung in die dunkelfarbigen leicht filtrierbaren Metallsulfide der $H_2S$-Gruppe ohne CdS über. Durch vorsichtiges Erwärmen fällt im Filtrat gelbes CdS aus, worauf sofort das Erwärmen unterbrochen wird. Nach 2 min Stehenlassen filtriert man ab und erhitzt das Filtrat zu neuem Sieden, worauf zuerst weißes ZnS und anschließend die weiteren Sulfide der $(NH_4)_2S$-Gruppe sich abscheiden. — Bezüglich der Variationen von Säurekonzentration und Wärmeanwendung zur Einzelfällung von Kupfer oder Molybdän usw., sowie über Trennungen Cu/Cd und Cu/Zn sei auf das Original verwiesen, wo sich auch eine Darstellungsvorschrift des Reagenses findet. H. Zellner.

**8-Oxychinaldin** (2 *Methyl-8-oxychinolin*) ist von L. L. Merritt und J. K. Walker[1] in die analytische Chemie *als Fällungsreagens* eingeführt worden. Es ist ein selektiveres Reagens als 8-Oxychinolin (Oxin), da es z. B. Aluminium nicht fällt. Auch Be, Ca, Sr, Ba, Pb, Mg und die Alkalimetalle geben keine Niederschläge. Mit Bi- oder $Sn^{IV}$-Salzen unterbleiben die Fällungen in Tartratlösung. Das Reagens wird besonders für die Bestimmung von Zink und seine Trennung von Magnesium und Aluminium empfohlen. Die Zinkfällung erfolgt in acetatgepufferter Lösung ($p_H$ 5,5), Magnesium fällt im Filtrat, wenn man auf $p_H$ 9,3 bringt, Aluminium kann im Zinkfiltrat mit Oxin bestimmt werden. Auch für die Bestimmung und Trennung anderer Metalle eignet sich das Reagens[2]. J. P. Phillips, J. F. Emery und H. P. Price[3] geben in der letzten Zeit eine vereinfachte Herstellungsmethode an; sie weisen auf die charakteristischen Färbungen event. Fluorescenzen hin, welche viele Metallsalze und auch einzelne freie Metalle beim Lösen in geschmolzenem Oxychinaldin liefern. Die Verf. bestätigen, daß man 8-Oxychinaldin bromometrisch bestimmen kann, indem man die stark salzsaure Lösung mit Bromat-Bromid in kleinem Überschuß versetzt und den unverbrauchten Rest jodometrisch zurücktitriert. Auch die direkte potentiometrische Titration an der Platinelektrode mit Bromat-Bromidlösung ist brauchbar. Indium, Uranyl, Scandium, Thorium, Blei können mit 8-Oxychinaldin nach der bei Oxinfällungen üblichen Arbeitsweise bestimmt werden. Die bei 105° C getrockneten Niederschläge von Scandium und Uranyl enthalten 1 Mol Reagens im Kristall; sie besitzen also die Zusammensetzungen $Sc(C_{10}H_8NO)_3 \cdot C_{10}H_9NO$ bzw. $UO_2(C_{10}H_8NO)_2 \cdot C_{10}H_9NO$. Die Fällungen von Uranyl und Thorium erfolgen in schwach ammoniakalischem Medium. H. Freytag.

**Die Haltbarkeit des Karl-Fischer-Reagenses** kann nach E. Brochmann-Hanssen und Phyllis Pong[4] wesentlich verbessert werden, wenn als Lösungsmittel an Stelle von Methanol wasserfreier Äthylenglykolmonomethyläther verwendet wird. H. Sperlich.

---

[1] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **16**, 387 (1944).

[2] Phillips, J. P., und L. L. Merritt, J. Amer. chem. Soc. **71**, 3984 (1949).

[3] Analyt. Chemistry **24**, 1033 (1952). Univ. Louisville, Ky. (USA).

[4] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 177 (1952). Univ. of California, College of Pharmacy, San Francisco, Calif.

**Zwei Spezial-Kofler-Heizbänke** wurden von W. Kofler[1] beschrieben. Die erste Type mit gedehntem Temperaturbereich (80—180° C) ermöglicht genauere Temperaturablesungen als die normale Heizbank[2] (50—260° C). Die neue Type eignet sich außer zu genauen Schmelzpunktsbestimmungen besonders auch für die Thermoanalyse. Die zweite Type umfaßt einen Temperaturbereich von 10—210° C, wobei die niedrigen Temperaturen durch Eiskühlung erreicht werden. Die Heizbank kann z. B. zur Bestimmung niedrig liegender eutektischer Temperaturen dienen. Oberhalb 95° C ist sie ohne Eiskühlung wie die normale Heizbank zu verwenden.

A. Herrmann.

---

## IV. Spezielle analytische Methoden.

### 2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche Methoden.

**Atmosphärische Luft.** *Kohlenoxyd* wird selbst in geringen, physiologisch wichtigen Konzentrationen *in Luft* (0,002—0,16%) an Zinkoxyd-Granalien, die nach G. A. Grant, M. Katz und R. Riberdy[3] mit 31 Mol% Silberpermanganat beladen sind, so schnell und quantitativ zu Kohlendioxyd oxydiert, daß die Oxydationswärme als Maß für die quantitative Analyse auf Kohlenoxyd verwendet werden kann. Die etwas schwierige Analyse mit Hilfe einer Säule aus 50 Thermoelementen nach M. Katz und J. Katzmann[4] wurde nunmehr von M. Katz, R. Riberdy und G. A. Grant[5] durch Verwendung temperaturempfindlicher Halbleiter, sogenannter „Thermistore", verbessert und erleichtert. Da durch Arbeiten von G. Bosson, F. Gutmann und L. M. Simmons[6] bekannt ist und bestätigt werden konnte, daß für den Widerstand R eines Thermistors (Nr. 6014A der Western Electric Co.) im Bereich von — 8 bis + 50° die Beziehung

$$\log R = A + \frac{B}{T + \Theta}$$

gilt, d. h. daß der Logarithmus des Widerstands der um $\Theta = 52°$ K vermehrten absoluten Temperatur umgekehrt linear proportional ist, wird folgende Methode angewendet: Das Gas wird mit konstanter Strömungsgeschwindigkeit durch eine temperaturkonstante Zelle (12 cm lang und 3,5 cm Durchmesser) geleitet, in der es im oberen Teil den „kalten" Thermistor umspült, der von Bimssteingranalien umgeben ist und als Thermometer für das einströmende Gas dient. In der unteren Hälfte trifft das Gas auf das Silberpermanganat-Zinkoxydgemisch von 3,0 cm, mindestens jedoch 1,5 cm Schichthöhe, in dem sich der „heiße" Thermistor befindet. Er zeigt die Temperatur an, die bei der CO-Verbrennung erreicht wird. Beide Thermistore werden in einer Wheatstoneschen Brückenschaltung mit Hilfswiderständen abgeglichen. Eine Widerstandsänderung des heißen Thermistors infolge CO-Oxydation kann dann leicht gemessen werden; sie geht linear mit der Konzentration an CO. Während die Strömungsgeschwindigkeit konstant und optimal 4 l je min sein muß, beeinflußt ein Unterschied der Relativfeuchtigkeit von 30 bis

[1] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **39**, 84 (1952).

[2] Vgl. L. Kofler und W. Kofler, Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **34**, 374 (1949); vgl. diese Z. **130**, 420 (1949/50).

[3] Canad. J. Technol. **29**, 511 (1951).

[4] Canad. J. Res., Sect. F. **26**, 318 (1948).

[5] Canad. J. Technol. **30**, 303 (1952). Defence Res. Board, Ottawa, Ont. (Canada).

[6] J. appl. Physics **21**, 1267 (1950).

85% die Analyse nicht. Bei Messungen unterhalb 10° C kann bei großer Strömungsgeschwindigkeit die Oxydation unvollständig bleiben.

Weniger als 0,0005 Vol.-% CO in Luft sind nach dieser Methode nachweisbar.

K. Cruse.

*Die Bestimmung von freiem Kohlenstoff in atmosphärischem Staub* führen R. McCarthy und C. E. Moore[1] in der Weise durch, daß sie die gesammelte Probe zunächst zur Zerstörung von begleitender organischer Substanz und eines Teils der anorganischen Verunreinigung mit Salpetersäure behandeln, in der Kohlenstoff ungelöst bleibt, der dann aus dem Glühverlust des Rückstandes ermittelt wird. — *Ausführung.* 0,2—0,8 g der Staubprobe kocht man mit 25 ml 70%iger Salpetersäure im bedeckten Becherglas 20 min lang, setzt weitere 125 ml 6 n Salpetersäure zu und läßt über Nacht stehen. (Die Flüssigkeit muß stark sauer sein, sonst wird der Kohlenstoff fein dispers und unfiltrierbar.) Nach sorgfältiger Dekantation und Filtration durch einen Gooch-Tiegel trocknet man 2 Std bei 140° C, wägt, glüht 2 Std bei 700° C und wägt wieder. In stark tonhaltigen Proben kann das Verfahren infolge Wasserverlust des Tons beim Glühen zu hohe Resultate geben.

H. Zellner.

**Eine schnell auszuführende, qualitative und halbquantitative Tüpfelreaktion auf Zinn in Magnesium- und Aluminiumlegierungen** gründen J. Clark und W. Stross[2] auf einen bereits von D. Bézier[3] beschriebenen Test, der auf der Entfärbung von Jod-Stärkelösung mit Zinn(II) beruht. Die Abschätzung des Zinngehaltes erfolgt durch Zählen der Tropfen Jod-Stärkereagens bzw. Metallösung, die zur Erzielung einer Farbung oder Entfärbung verbraucht werden. Um eine einheitliche Tropfengröße zu gewährleisten, werden Pipetten mit gleich großen Auslauföffnungen hergestellt, indem man das eine Ende eines Glasrohres zu einer Capillare auszieht, diese in ein Loch von 2,79 mm ⌀ (Metallblock) bis zum Anstoß einführt und an diesem Punkt die Spitze abschneidet. Eine unbegrenzt haltbare Stärkelösung wird hergestellt, indem man in 60 ml kochende gesättigte NaCl-Lösung unter Rühren eine Stärkesuspension von 5 g löslicher Stärke in 30 ml kalter, gesättigter NaCl-Lösung langsam einträgt, einige Minuten kocht, mit NaCl-Lösung auf 100 ml auffüllt und heiß filtriert. Zum Gebrauch bereitet man täglich frisch 2 Jod-Stärkereagenzien, und zwar a) zum Nachweis kleiner Sn-Mengen ein Reagens, bestehend aus 1 ml Stärkelosung, 18,8 ml Wasser und 0,2 ml 0,1 n Jodlösung, b) für größere Sn-Mengen ein Reagens, enthaltend 5 ml Stärkelösung, 14,2 ml Wasser und 0,8 ml 0,1 n Jodlösung. — *Magnesiumlegierungen:* In das zu untersuchende Legierungsstück wird ein Loch (1—2 mm tief, 9 mm ⌀) gebohrt, das dann einige Tropfen Salzsäure (1:1) aufnimmt. Nach Beendigung der Reaktion gibt man mit einer Pipette einen Tropfen der Metallösung auf eine Tüpfelplatte, setzt einen Tropfen des geeigneten Jodstärkereagenses zu und rührt mit einem dünnen Glasstab. Da die Gefahr einer Reoxydation besteht, muß rasch gearbeitet werden. Schwindet die Farbe nach wenigen Sekunden, so ist die Reaktion positiv. Die quantitative Auswertung ist die gleiche wie bei den *Aluminiumlegierungen*: 100 mg Dreh-, Feil- oder Bohrspäne der Aluminiumlegierung werden in einem Reagensglas mit 3 ml Salzsäure (2:1) in Lösung gebracht, die Reaktion wird durch Eintauchen in ein Wasserbad von 60° C zu Ende geführt. Einen Tropfen Jodstärkelösung a) gibt man auf eine Tüpfelplatte und setzt tropfenweise die klare bzw. überstehende Lösung der Legierung zu. Nach jedem Zusatz wird gerührt und 5 see gewartet. Die Anzahl der zur Entfärbung notwendigen Tropfen dient als Maß für den Zinngehalt. Legierungen mit bekanntem

[1] Analyt. Chemistry **24**, 411 (1952). Univ. Louisville, Ky. (USA).

[2] Metallurgia (Manchester) **46**, 215, 212 (1952).

[3] Anal. chim. Acta **1**, 113 (1947); vgl. diese Z. **130**, 261 (1949/50).

Zinngehalt bzw. Lösungen von reinem Al mit $SnCl_2$-Zusatz dienen als Eichsubstanzen. Vollkommene Entfärbung nach dem ersten Tropfen Metallösung zeigt einen Zinngehalt von 0,5% und mehr an. Man kann nun solange Reagens a) zutropfen lassen, bis eine beständige Färbung erzielt wird, wobei 2 Tropfen jeweils 1% Zinn anzeigen. Das Verfahren erlaubt eine Abschätzung bis zu 30% Sn. H. Schmidt.

**Für die Schnellbestimmung von Kobalt in Aluminiumlegierungen mittels Nitroso-R-Salz** kann nach W. Stross und Gertrude Stross[1] das für die Stahlanalyse ausgearbeitete Verfahren von F. W. Haywood und A. A. R. Wood[2] ohne wesentliche Abänderungen angewendet werden. Das umständliche Abrauchen der Salpetersäure kann hier entfallen. Die meisten der gebräuchlichen Begleitmetalle in den üblichen Konzentrationen haben keinen Einfluß; nur größere Mengen Cu über 40% bzw. 15% bei 0,25% bzw. 2% anwesendem Co stören und sind deshalb zuvor elektrolytisch abzutrennen. — *Verfahren.* Eine Einwaage von 200 mg zersetzt man im bedeckten 250 ml-Becher mit 20 ml 15%iger Natronlauge und vollendet die Reaktion durch höchstens 5 min langes Kochen. Dann erhitzt man mit Salpetersäure (1:1) zur klaren Lösung und treibt durch kräftiges Kochen mit Siedesteinchen in genau 2 min die nitrosen Dämpfe ab. Man filtriert in einen 200 ml-Meßkolben und füllt zur Marke auf. Von der Lösung können Anteile zur Bestimmung von Cu, Ni, Fe usw. abgenommen werden. Für die Kobaltbestimmung pipettiert man 20 ml der Lösung mit höchstens 2% Co-Gehalt in einen 100 ml-Pyrexmeßkolben und fügt 10 ml 50%ige Natriumacetatlösung, 4 ml 0,5%ige wäßrige Nitroso-R-salzlösung und Siedesteinchen hinzu. Man läßt mindestens 5 min stehen und erhitzt dann, wobei Aluminiumhydroxyd ausfällt (Beryllium stört). Bei vollem Sieden gibt man darauf 5 ml konzentrierte Salpetersäure in schnellem Zuge zu und kocht noch 90 ± 10 sec weiter. Dann kühlt man den Kolben ungesäumt in kaltem Wasser ab, worauf man zur Marke auffüllt. Im Absorptiometer mißt man sodann in einer 1 cm- bzw. 4 cm-Küvette mit Wolframfadenlampe und Ilford-Filter Nr. 602 die Absorption, wobei man gegen ein Blindmuster und eine Eichkurve, die aus bekannten Standardmustern hergestellt ist, vergleicht. H. Zellner.

**Über die Probenahme von Ferrolegierungen** und die dabei einzuhaltenden Grundregeln bringt M. D. E. Jonckers[3] umfangreiche Ausführungen, da der Probenahme ein entscheidender Einfluß auf die Genauigkeit der Analysen zukommt. Durch Analysentabellen und Kurvenbilder belegt, unterbaut Verf. seine sehr strengen Vorschriften über die Art der Probenahme vom Transportmittel an bis zur Analysenprobe, die an die Schulung und die Gewissenhaftigkeit der Probenehmer höchste Anforderungen stellt. W. Gottwald.

**Über den Aufschluß chromhaltiger Eisenlegierungen mit Perchlorsäure und die darauffolgende Chrombestimmung** faßt B. E. Jaboulay[4] ergänzend zu den Ausführungen von A. Lassieur u. Mitarb.[5] eigene und fremde Erfahrungen über diesen Gegenstand wie folgt zusammen. 1. Die Oxydation von großen Mengen Chrom durch Perchlorsäure ist in Gegenwart von Phosphorsäure immer unvollständig. 2. Phosphorsäure verhindert nicht Chromverluste infolge der Verflüchtigung von Chromylchlorid. 3. Phosphorsäure wirkt nur bei Vorhandensein geringer Chrommengen (bis

[1] Metallurgia (Manchester) **45**, 315 (1952). International Alloys, Ltd., Aylesbury, Bucks. (England).

[2] J. Soc. chem. Ind. **62**. 37 (1943); vgl. diese Z. **128**, 348 (1948).

[3] Chim. analytique **34**, 75 (1952). S. an. des Forges, Marchienne-au-Pont, Belgien.

[4] Chim. analytique **34**, 131 (1952).

[5] Lassieur, A., L. Bertiaux, Chataignier, B. E. Jaboulay, Lemoine und Miel: Chim. analytique **33**, 129 (1951); vgl. diese Z. **135**, 134 (1952).

etwa 0,025 g) verlusthemmend. 4. Auch Eisen wirkt verlusthemmend, ohne jedoch Chromverluste vollständig zu unterdrücken. 5. Die starke Farbe von Chrom(III)-salz stört bei der Titration nur, wenn viel Phosphorsäure und viel Chrom zugegen sind. R. Lang.

**Die Bestimmung kleiner Kupfermengen in Gußeisenlagermetall** erfolgt nach A. V. Mitrošina und L. S. Tarasova[1] *durch innere Elektrolyse* ohne Verwendung von Hydrazinsulfat. Man übergießt 1 g Einwaage mit 40 ml verdünntem Königswasser. Nach beendeter stürmischer Reaktion wird die Flüssigkeit bis zur vollständigen Auflösung des Metalles erwärmt. Man gibt dann 20 ml Schwefelsäure (1:1) zu und dampft vorsichtig ein bis zur Bildung von weißen $SO_3$-Dämpfen. Nach dem Abkühlen werden die Salze durch Erwärmen in 50—60 ml Wasser gelöst und der Rückstand wird abfiltriert. Das Filtrat wird mit Wasser auf 200 ml verdünnt, auf 60—70° C erwärmt und mit 5—6 g Ammoniumsulfat versetzt. Man bringt nun in die Lösung die Vorrichtung für innere Elektrolyse mit Eisenanode und Platinkathode und elektrolysiert 30—35 min bei 60—70° C. Nach beendeter Elektrolyse wird die Elektrode mit dem Kupferbelag mit Wasser und Alkohol gewaschen, bei 90—100° C getrocknet und gewogen. Die Resultate sind meist etwas niedriger als die durch äußere Elektrolyse erhaltenen Zahlen.

A. Trofimow.

**Die Bestimmung kleiner Mengen Zink in Reinnickel** nach N. A. Filippova und Ju. Ju. Lurje[2] beruht auf der Fällung des Zinks mit Acridin und Rhodanid und anschließender colorimetrischen Bestimmung mit Dithizon. — Man löst 10 g Nickel in 50 ml Salpetersäure (3:2), kocht und verdampft dann bis zur Syrupdicke. Der Rückstand wird in 30 ml Wasser warm gelöst, die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben übergeführt und bis zur Marke verdünnt. 10—25 ml Lösung werden mit 2%iger Sodalösung auf $p_H$ 1,5 eingestellt (Indicator Methylviolett), dann unter Rühren mit 10 ml 2%iger Acridinsulfatlösung und 10 ml 50%iger Ammoniumrhodanidlösung versetzt. Der Niederschlag wird nach 4—5 Std abfiltriert, 7—8mal mit einer Lösung gewaschen, die in 100 ml 1 g Ammoniumrhodanid und 0,025 g Acridinsulfat enthält. Man spült den Niederschlag in ein Becherglas, behandelt das Filter mit 20 ml 20%iger Ammoniumchloridlösung und wäscht mit heißem Wasser. Man erwärmt das Gemisch im Becherglas bis zum Auflösen des Niederschlages, gibt 8 ml 10%ige Sodalösung zu und läßt bei Zimmertemperatur stehen. Das ausgeschiedene Acridinhydroxyd und Eisenhydroxyd werden 2—3mal mit 1%iger Ammoniumchloridlösung, die einige Tropfen Sodalösung enthält, gewaschen. Das Filtrat und die Waschwässer werden in einen 100 ml-Meßkolben gesammelt. Der Niederschlag wird mit 1 ml Schwefelsäure (1:3) durch Erwärmen gelöst, die Lösung wird mit Ammoniak bis zum schwachen Geruch versetzt, abgekühlt, der ausgeschiedene Niederschlag filtriert, wie oben gewaschen und dann verworfen. Die vereinigten Filtrate und Waschwässer werden mit 2—3 Tropfen Na-Alizarinsulfonatlösung bis zur Gelbfärbung versetzt und mit Wasser bis zur Marke verdünnt. Zur colorimetrischen Bestimmung bringt man 10 ml Lösung in einen Scheidetrichter, fügt 4 Tropfen 1%ige Hydroxylaminhydrochloridlösung, 2 Tropfen Na-Alizarinsulfonatlösung und tropfenweise 2 n Natriumacetatlösung bis zur Rosafärbung zu. Man versetzt danach mit 3 Tropfen 1%iger Kaliumcyanidlösung, mit Salzsäure (1:9) bis zur Gelbfärbung, dann erneut mit 2 n Natriumacetatlösung bis zur Rosafärbung und schließlich mit 20 ml 0,005%iger Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff. Nach 2 min langen kräftigem Schütteln überführt

[1] Zavodskaja Laborat. (Betriebslab.) **16**, 874 (1950) [Russisch].

[2] Zavodskaja Laborat. (Betriebslab.) **16**, 912 (1950) [Russisch]. Staatl. wiss. Forsch.-Inst. für Buntmetalle.

man die organische Schicht in einen zweiten Scheidetrichter, schüttelt die wäßrige Schicht mit 2—3 ml Tetrachlorkohlenstoff, wäscht die organische Lösung mit 5—6 ml Wasser und schüttelt dann 2mal zuerst mit 10, dann mit 5 ml 0,05 n Schwefelsäure. Das organische Lösungsmittel wird danach verworfen, die wäßrigen Lösungen werden vereint, mit 2 Tropfen Na-Alizarinsulfonatlösung und 2 n Natriumacetatlösung bis zur Rosafärbung versetzt. Aus einer Bürette werden 8 ml 0,001%ige Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff zugegeben und 2 min geschüttelt. Die organische Schicht wird in ein 10—12 mm weites, 30 ml fassendes Colorimetrierglas übergeführt, die wäßrige Schicht mit 2—3 ml $CCl_4$ nachgeschüttelt. Man verdünnt mit $CCl_4$ auf 12 ml. Gleichzeitig wird ein Blindversuch mit denselben Reagenzienmengen durchgeführt, mit Ausnahme von Kaliumcyanid, von welchem nur 1 Tropfen zugegeben wird. Zu der erhaltenen Lösung gibt man aus einer Mikrobürette eine bekannte Zinksalzlösung bis zum gleichen Farbton der Analysenlösung zu. — Es können noch 3,6 $\mu$g Zink in Nickel bestimmt werden.

A. Trofimow.

**Die Bestimmung von Natriumoxyd in Aluminiumoxyd** kann nach A. K. Archibald und M. E. McLeod[1] auf zeitsparende, zuverlässige Art durch Sintern mit Boroxyd oder Borsäure durchgeführt werden. Das Natrium wird quantitativ wasserlöslich.

0,5 g der feinpulverisierten Aluminiumoxydprobe vermischt man in einem bedeckten Platintiegel mit 0,85 g Borsäureanhydrid oder mit 1—1,5 g Borsäure und erhitzt zunächst 5 min mit kleiner Flamme, dann weitere 5 min mit voller Brennerflamme. Nach Abkühlung stülpt man den Tiegelinhalt in einen 250 ml-Becher und kocht den Tiegel mit 10—15 ml Wasser aus. Sinterkuchen und Spülwasser versetzt man dann mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure und kocht ungefähr 5 min, bis der Sinterkuchen zerfällt. Nach Abfiltrieren und Waschen des Filters mit heißem Wasser bestimmt man Natrium in der Lösung mit Hilfe des Flammenphotometers oder nach der Zinkuranylacetatmethode, im letzten Falle entweder gewichtsanalytisch oder maßanalytisch durch Titration der reduzierten Lösung des Niederschlages mit Cer(IV)-salzlösung unter Verwendung von Ferroin als Indicator. Mitausfallen von Borsäure verhindert man durch genügend Uranylreagens (100 ml auf 5 ml eingedampftes Filtrat).

H. Zellner.

**Zur Bestimmung der freien und gesamten Säure in handelsüblicher Milchsäure** schlagen W. R. Fetzer und R. C. Jones[2] die folgende Methode vor, die sich bereits in 5jährigem Gebrauch bewährt hat: Je nach Konzentration der Handelsware werden in einem Wägegläschen 5 ml 22%ige oder 3 ml 44—50%ige oder 1,5 ml 80%ige Milchsäure genau eingewogen und mit 75—100 ml dest. Wasser in einen 500 ml-Erlenmeyer übergespült. Nach Zugabe von weiteren 100 ml dest. $H_2O$ und 9 Tropfen Phenolphthaleinlösung titriert man mit 0,5 n Natronlauge langsam unter kräftigem Schütteln bis zur schwachen Rosafärbung. Dann läßt man den restlichen Inhalt der 50 ml-Bürette schnell zulaufen und schüttelt kräftig um. Nach 20—30 min langem Stehen titriert man mit 0,5 n Salzsäure zurück.

Berechnung:

$$\text{freie Milchsäure in \%} = \frac{\text{ml 0,5 n NaOH} \times 0{,}045}{\text{Einwaage}} \times 100.$$

$$\text{gesamte Milchsäure in \%} = \frac{(50 - \text{ml 0,5 n HCl}) \times 0{,}045}{\text{Einwaage}} \times 100.$$

Wenn Verf. feststellen, daß es bisher keine offizielle oder annehmbare Methode zur Milchsäurebestimmung gegeben hat, so muß hier gesagt werden, daß im

[1] Analyt. Chemistry **24**, 222 (1952). Aluminium Co. of Canada, Arvida, Quebec.
[2] Analyt. Chemistry **24**, 835 (1952). Clinton Foods Inc., Clinton, Iowa (U.S.A.).

Deutschen Arzneibuch, Ausgabe 6, nach der von ihnen angegebenen Methode bereits seit 1926 die Untersuchung der Milchsäure auf ihren Gehalt an Lactylmilchsäure durchgeführt wird (d. Ref.). J. Koch.

**Um in Cholinsalzen flüchtige Amine (Trimethylamin) zu bestimmen,** die als Verunreinigungen vorhanden sein können, treibt man die Amine nach R. H. Cundiff und J. A. Riddick[1] durch einen Luftstrom bei 25—30°C aus der alkalischen Lösung aus. Höher darf die Temperatur nicht sein, da bei 40°C bereits merkliche Zersetzung des Cholins zu Trimethylamin eintritt. — *Ausführung.* In dem kleinen, mit Gaseinleitungs- und Ableitungsrohr versehenen Reaktionsgefäß befinden sich 50 ml Natronlauge (300 g NaOH in 1 l), denen man 50 ml der Cholinsalzlösung zufügt. Die Wandungen spült man mit wenig Wasser ab. In den als Vorlage dienenden Erlenmeyer-Kolben gibt man 50 ml Eisessig, weitere 10 ml Eisessig kommen in das den Abschluß bildende Reagensglas. Nach Zusammenstellung der Apparatur leitet man 75 min lang gereinigte Luft durch, so daß kontinuierlich Blasen durch die alkalische Cholinlösung aufsteigen. Hierauf vereint man im Kolben beide Eisessiglösungen, versetzt mit 15 ml Essigsäureanhydrid und hält 5 min in schwachem Sieden. Nach Abkühlung fügt man 1 Tropfen Kristallviolettlösung (1 g in 100 ml Eisessig) hinzu und titriert mit 0,1 n Perchlorsäurelösung auf Blaugrün.

H. Freytag.

**Methylmethacrylat** kann man nach St. dal Nogare, L. R. Perkins und A. H. Hale[2] in Gegenwart von Perjodsäure mit Permanganat titrieren, wobei das Permanganat zwei HO-Gruppen an die Doppelbindung anlagert und die Perjodsäure das so gebildete Diol spaltet. — *Ausführung*: Um das Monomere aus Polymerisaten abzutrennen, löst man 1 g Polymethylmethacrylat in 40 ml Eisessig, fällt das Polymere durch Zutropfen von 25 ml Wasser unter Rühren wieder aus und destilliert 20 ml Flüssigkeit langsam ab. Im Destillat ist praktisch alles monomere Methylmethacrylat enthalten. Zur Bestimmung vermischt man 5 ml 50 volumprozentige Schwefelsäure mit 1 ml 20%iger wäßriger (täglich frisch herzustellender) Perjodsäure, kühlt in Eiswasser, gibt eine 6 mg Methylmethacrylat möglichst nicht überschreitende Menge Destillat hinzu und titriert mit 0,02 n $KMnO_4$-Lösung, bis ein rosa Farbton 1 min bestehen bleibt. 1 Milliäqu. $KMnO_4$ entspricht 21,7 mg Methylmethacrylat. Die Ergebnisse sind auf ± 5% genau. — Bei Anwendung größerer Mengen als 6 mg der zu bestimmenden Verbindung in einer Titration ist der Endpunkt wegen Störung durch Reduktionsprodukte des Permanganats in zunehmendem Maße schwieriger zu erkennen. — Andere ungesättigte Verbindungen lassen sich, soweit sie in wäßriger Essigsäure löslich sind, auf dieselbe Weise bestimmen, z. B. *Methylacrylat, Acrylonitril* und *Styrol.*

F. Neumann.

**Der Nachweis der Polyäthylenglykole** gelingt nach E. Benk[3] leicht und sicher auf Grund ihrer gleichzeitigen Löslichkeit in Wasser und Benzolkohlenwasserstoffen (in Benzinkohlenwasserstoffen, Äther, $CS_2$ usw. sind sie schwer bis unlöslich) sowie auf Grund der folgenden Fällungs- und Farbreaktionen in Salben, Zäpfchen, Melkfetten usw., wenn diese frei von Glycerin und einfachen Glykolen sind. Niederschläge entstehen mit $HgCl_2$, Jodjodkalium, $K_2HgJ_4$, $KBiJ_4$. Permanganat in saurer, neutraler und alkalischer Lösung, Dichromat in saurer Lösung werden

[1] Analyt. Chemistry **24**, 910 (1952). Commercial Solvents Corp., Terre Haute, Ind. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **24**, 512 (1952). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, Del. (USA).

[3] Fette u. Seifen **54**, 85 (1952). Chem. Landesuntersuchungsamt Reutlingen.

reduziert. Im Gegensatz zu Glycerin verändern sie nicht die alkalische Reaktion von Borax. Die nachstehenden Farbreaktionen gelten für die Polyäthylenglykole, Glycerin und die einfachen Glykole gemeinsam: 1. 1 Tropfen der wäßrigen Polyäthylenglykol-(PÄG)-Lösung gibt mit 0,02 g Codeinbase und 0,5 ml konz. Schwefelsäure eine himbeer- bis violettrote Färbung. — 2. Man erhitzt 1,5 ml wäßrige PÄG-Lösung mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure zum Sieden, schüttelt 1 min, kühlt ab, entfärbt genau mit 8%iger Oxalsäurelösung und vermischt dann vorsichtig mit 2 ml 5% alkoholischer $\beta$-Naphthollösung und 4 ml konz. Schwefelsäure. Es entsteht eine trübe himbeer- bis braunrote Färbung. — 3. 0,1 g PÄG wird mit 10 ml frisch bereitetem Bromwasser 20 min auf dem Wasserbad erhitzt, davon werden 0,4 ml, von überschüssigem Brom befreit, mit 0,1 ml 4%iger KBr-Lösung und 2 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Die entstehende starke Gelbfärbung wird durch Zusatz von 1 ml 5%iger alkoholischer Guajacollösung lachsrot bis rötlichviolett. — 4. 0,4 ml der wie bei 3. oxydierten Lösung versetzt man mit 0,1 ml 5%iger alkoholischer Codeinlösung und 2 ml konz. Schwefelsäure, wodurch grünlichblaue Farbtöne entstehen. $\beta$-Naphthol liefert stattdessen grünlichgelbe Färbungen mit grüner Fluorescenz. Mit Resorcin ergeben sich himbeerrote, mit Thymol erdbeerrote, mit Guajacol violettrote, mit Phenol lachsrote Färbungen. — 5. 0,5 g PÄG wird mit 1 ml Alkohol gelöst, dann mit 0,5 ml 10%iger alkoholischer Vanillinlösung und tropfenweise mit 0,5 ml konz. Schwefelsäure geschüttelt. Es ergeben sich rotviolette Farbtöne. — 6. 0,1 g PÄG in 2 ml Wasser zeigt mit 3 ml 5%iger Pyrogallol-Schwefelsäurelösung goldbraune Färbung. — 7. Ein linsengroßes Stück PÄG wird mit Kaliumbisulfat erhitzt. Ein mit 1%iger Nitroprussidnatriumlösung und mit 1 Tropfen Piperidin befeuchteter Papierstreifen wird durch die Dämpfe deutlich blau, bei Zusatz von Natronlauge stumpfrosa gefärbt. H. Zellner.

**Die Bestimmung von C-Methylgruppen in langkettigen, aliphatischen Verbindungen,** wie sie zuerst von R. Kuhn und H. Roth[1] beschrieben und später von E. Wiesenberger[2] modifiziert wurde, verbesserten W. Kirsten und E. Stenhagen[3] durch Abänderung der Oxydationsbedingungen, durch Benutzung einer höheren Temperatur sowie durch Dispergieren der Proben mittels eines Schüttelapparates. Auf diese Weise können aliphatische Verbindungen mit normalen und verzweigten Ketten bis zu 44 C-Atomen im Molekül mit befriedigendem Ergebnis untersucht werden. Damit ist das ursprüngliche Verfahren und auch das von L. G. Ginger[4] übertroffen.

Die Einwaagen erfolgen in Pyrexglasbomben mit einem Innendurchmesser von 8—9 mm, einem äußeren Durchmesser von ungefähr 12 mm und einer Länge von 120—150 mm, unter Benutzung der Wägeröhre von H. Lieb und H. G. Krainick[5]. Flüssigkeiten werden in Glasfingerhüten eingewogen und diese in das Bombenrohr eingeschoben. Für Verfahren 1 benötigt man 15—30 mg, für Verfahren 2 8—12 mg. Zu den Einwaagen fügt man 5 ml Oxydationslösung; sie ist in bezug auf Chromsäure beim 1. Verfahren 4 n, beim 2. aber 5 n. In beiden Fällen enthält die Lösung 50 ml konz. Schwefelsäure auf 200 ml Chromsäurelösung. Die Bomben werden zugeschmolzen. Die Schüttelapparatur (vgl. Abb. 1) besteht aus einem Al-Block mit 8 Bohrungen zur Aufnahme der Bombenrohre und ist mit elektrischer Heizung und einem Thermoelement versehen. Bei Verfahren 1 wird auf 120° C erhitzt und mit

[1] Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1274 (1933); vgl. diese Z. **102**, 362 (1935).

[2] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **33**, 51 (1948).

[3] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **6**, 682 (1952). Inst. f. mediz. Chem., Univ. Uppsala.

[4] J. biol. Chemistry **156**, 453 (1944).

[5] Mikrochemie **9**, 367 (1931).

einer Geschwindigkeit von 74 Perioden min und 10 cm Hub in der Längsachse geschüttelt. Verfahren 2 erfordert 135° C, 150 Perioden/min und gleichen Hub. Bei Verfahren 2 ist die gesamte organische Substanz nach 4 Std. zerstört. Die Bomben werden dann wie üblich geöffnet und ihr Inhalt in die Destillationsapparatur gewaschen. Das Gerät von WIESENBERGER ist am besten geeignet, doch empfiehlt sich ein Seitenrohr zum Einleiten eines schwachen $N_2$-Stroms, um Stoßen zu vermeiden (s. Abb. 2). Die Titration der Essigsäure erfolgt am besten nach vorangehendem kurzem Erhitzen. Um Verluste zu vermeiden, erhitzen die Verff. mit gewöhnlicher 3 cm hoher Bunsenflamme nur 7 sec lang. Der Kolben wird dabei geneigt gehalten und in die Lösung ein Pt-Tetraederchen zur Verhütung des Stoßens gegeben. Nach dem Kochen wird der Kolben sofort in kaltes Wasser getaucht und

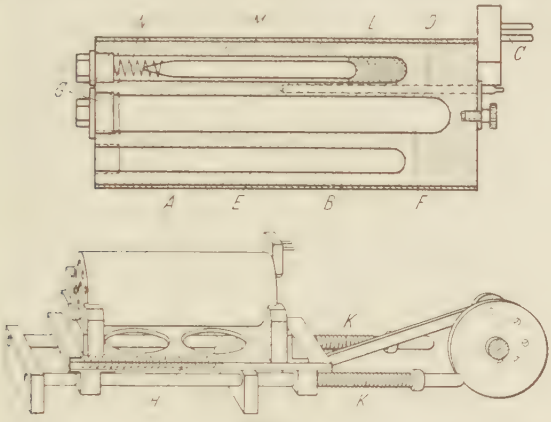


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Mechanischer Schüttler nach KIRSTEN u. STENHAGEN: *A* Al-Block; *B* Heizung mit Asbestisolierung; *C* Stecker für die Heizung; *D* Fe-Constantan-Thermoelement; *E*, *F* Bohrungen für die Bomben; *G* Haltestopfen; *L* Watte; *N* Haltefeder für die Bombe; *M*, *H*, *K* Federn.

Abb. 2. Destillationskolben nach WIESENBERGER mit eingeschmolzenem Gaseinleitungsrohr.

mit einem kleinen Uhrglas zugedeckt. Nach genau 2 min fügt man 1 Tropfen einer 1%igen Phenolphthaleinlösung zu und titriert rasch bis zur ersten, 5 sec lang beständigen Rosafarbung. Zur Kompensierung von Fehlern wird eine Blindtitration ausgeführt. H. FREYTAG.

**Zum qualitativen Nachweis von langkettigen Alkylpyridiniumhalogeniden,** wie *Laurylpyridiniumchlorid*, *Cetylpyridiniumchlorid* und *-bromid in Waschmitteln*, eignet sich nach E. G. BROWN[1] eine von F. FEIGL[2] angegebene Tüpfelreaktion auf Fließpapier. Man bringt einen Tropfen einer gesättigten wäßrigen Lösung von *Natrium-1,2-naphthochinon-4-sulfonat* auf Tüpfelpapier (z. B. Whatman Nr. 120), fügt einen Tropfen der auf Alkylpyridiniumhalogenid zu prüfenden Lösung und zuletzt einen Tropfen 0,5 n Natronlauge hinzu. Tritt eine rotviolette Färbung auf, so ist der Nachweis positiv. Die Färbung verblaßt nur langsam. 25 $\mu$g Alkylpyridiniumhalogenid sind noch gut zu erkennen. Auf Tüpfelplatten ist der Nachweis weniger empfindlich und die Färbung weniger haltbar. Ansäuern mit Essigsäure nach dem Vorschlage von FEIGL ergibt eine unspezifische Gelborangefärbung.

[1] Analyst. (London) **77**, 211 (1952). Brit. Enka Ltd., Aintree, Liverpool 9 (England).

[2] „Qualitative Analysis by Spot Tests", Amsterdam 1947.

Kationaktive Substanzen vom Typ der quaternären Ammoniumsalze geben erwartungsgemäß keine Farbreaktion. Der Nachweis kann zur Erkennung von Alkylpyridiniumhalogeniden auf Textilien benutzt werden. F. Neumann.

**Für die Bestimmung von Kautschuk-Kohlenwasserstoff** in rohem, verunreinigtem Naturkautschuk empfehlen W. J. Gowans und F. E. Clark[1] eine Modifikation des Bromierungsverfahrens von C. O. Willits, M. L. Swain und C. L. Ogg[2]. Gowans und Clark fanden, daß durch Zusatz von Chloroform zu der benzolischen Kautschuklösung Substitutionsreaktionen verhindert werden. Die Konzentration der Lösung an Kautschuk ist ein wichtiges Kriterium für den Verlauf der Bromierung. Zugabe von Trichloressigsäure zur Erleichterung des Lösungsvorganges hat auf die Ergebnisse keinen Einfluß. Gegenwart von Jod beschleunigt die Bromierung, ebenso Licht. *Arbeitsvorschrift.* Bromierungslösung: 2 g Jod werden in 100 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Man filtriert und fügt 5 ml Brom zu. Ausführung: Man zieht 5—10 g des rohen Kautschuks in einem enggestellten kalten Walzwerk dünn aus und wägt etwa 0,5 g davon in ein 70 ml-Zentrifugenglas ein. Man fügt 45 ml Benzol und 5 ml 10%ige Trichloressigsäure in Benzol zu, läßt 48 Std bei gelegentlichem Rühren stehen und erwärmt dann durch Einstellen in heißes Wasser. Man zentrifugiert 20 min bei 2000 Umdrehungen min, dekantiert die benzolische Kautschuklösung in einen 250 ml-Meßkolben, wäscht den Rückstand mehrmals mit Benzol, zentrifugiert immer wieder ab und setzt die Waschflüssigkeit der Stammlösung zu; dann wird auf Volumen gebracht. — Bestimmung des unlöslichen Anteils. Der im Zentrifugenglas befindliche Rest wird 2mal mit Äthylalkohol nachgewaschen, in einen Gooch-Tiegel filtriert, mit Äthylalkohol gewaschen und nach 1stündigem Trocknen bei 100°C gewogen. — Bromierung. Die benzolische Kautschuklösung im Meßkolben wird mit Benzol im Wasserbad bei 25°C auf Volumen gebracht. Man entnimmt 25 ml, die dann etwa 30—50 mg Kautschukkohlenwasserstoff enthalten, überführt in ein 250 ml-Becherglas und setzt 9 ml Chloroform und 2,5 ml Bromierungslösung zu. Der Becher wird in ein Wasserbad von 25°C eingestellt und für 100 ± 5 min bei Ausschluß von direktem Sonnenlicht der Ruhe überlassen. Hierauf fügt man etwa 200 ml 95%igen Äthylalkohol zu, läßt 2 Std absitzen, filtriert in einen Gooch-Tiegel und wäscht gründlich mit 95%igem Äthylalkohol. Man trocknet schließlich im Vacuum bei 65°C bis zur Gewichtskonstanz. Der Umrechnungsfaktor in Kautschukohlenwasserstoff beträgt für Hevea smoked sheet 0,299, was mit dem theoretischen Wert gut übereinstimmt [0,2988 für $(C_5H_8Br_2)n$]. Für Guayulekautschuk wurde der Faktor 0,301 festgestellt.

H. E. Frey.

**Isocyanat in Bindemitteln für Gummi** mit Metallen oder Textilien bestimmt A. G. Williamson[3] mittels der bekannten Umsetzung von Isocyanaten mit Aminen (am besten Diisobutylamin) zu den entsprechenden Harnstoffderivaten und Rücktitration des überschüssigen Amins mit Salzsäure. Da das Ende der Titration bei den meist dunkel gefärbten Isocyanaten mit Farbindicatoren unscharf zu erkennen ist, benutzt der Verfasser die potentiometrische Titration mit hochohmiger Glaselektrode und Röhrenverstärker. Auch hierbei ist der Äquivalenzpunkt nur bei Gegenwart einer gewissen Wassermenge einwandfrei feststellbar. Deshalb versetzt man die sonst ausschließlich organischen Lösungsmittel kurz vor der Titration mit 10 Vol.-% Wasser. Wegen geringer Hydrolyse des entstehenden Alkylammonium-

[1] Analyt. Chemistry **24**, 529 (1952). U. S. Natural Rubber Res. Station, Salinas, Calif. (USA).

[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 439 (1946).

[3] Analyst (London), **77**, 372 (1952). British Rubber Manufacturers, Croydon, Surrey (England).

hydrochlorids eignet sich als Titriermittel keine schwächere als n Salzsäure, die man durch Verdünnen von konzentrierter wäßriger Salzsäure mit einer Mischung von Monochlorbenzol und Methanol (30:100 Vol.) herstellt und gegen wäßrige n Natronlauge mit Methylorange als Indicator einstellt. Das Reagens Diisobutylamin löst man zu einer Konzentration von 1,5—2 normal in Monochlorbenzol. Davon verwendet man zu jeder Titration 10 ml, verdünnt mit reinem Monochlorbenzol auf ungefähr 20 ml, wägt soviel von dem zu untersuchenden Isocyanat hinzu, daß von dem Reagens 5—7 ml verbraucht werden, und läßt 10 min verschlossen stehen. Danach verdünnt man mit Methanol so weit, bis das Volumenverhältnis zwischen Monochlorbenzol und Methanol 30:100 beträgt, fügt 10% Wasser dazu und titriert den Diisobutylaminüberschuß unter Benutzung der potentiometrischen Meßanordnung mit der organisch-wäßrigen Salzsäure zurück. Nebenher bestimmt man auf dieselbe Weise, aber ohne Isocyanat, den Blindwert. — Mit Diisobutylamin als Reagens beträgt die mittlere Abweichung der Ergebnisse 0,5%, mit dem weniger geeigneten Piperidin 1%. — Carbamylchloride, die in manchen Isocyanaten als Verunreinigungen enthalten sind, werden bei der Reaktion mitbestimmt. In solchen Fällen kann man den wahren Isocyanatgehalt durch Vergleich der Ergebnisse der potentiometrischen Titration und der gravimetrischen Bestimmung nach H. E. Stagg[1] erhalten. F. Neumann.

**Sauerstoffbestimmung in Kohlen.** Nach Untersuchungen von Marthe Bastick[2] ist das Verfahren von Schütze-Unterzaucher[3] für die direkte Sauerstoffbestimmung in Kohlen gut geeignet, selbst wenn die Kohlen stark schwefelhaltig sind. Für die Überführung des Kohlenmonoxyds in Kohlendioxyd ersetzt die Verfasserin die üblichen Verfahren ($J_2O_5$, HgO, Hopcalit) durch die Verbrennung im Sauerstoffstrom an Platin als Katalysator, der in Form von platinierten Perlen aus Pyrexglas angewendet wird. CO verbrennt quantitativ bei 450—500° C, während $CH_4$ bei dieser Temperatur noch nicht angegriffen wird. Von Mineralstoffen, die in der Kohle vorkommen, stören $SiO_2$ und Pyrit gar nicht. Von $CaSO_4$ und $CaCO_3$ wird der gesamte Sauerstoff mitbestimmt. Eisenoxyde werden je nach Dauer der Bestimmung, der Menge der Oxyde und der Natur der Kohle mehr oder weniger weitgehend reduziert. Die störenden Mineralstoffe lassen sich durch Behandeln mit Salzsäure unter Luftausschluß herauslösen, ohne daß dadurch der Sauerstoffgehalt der Kohlen geändert wird. Das Verfahren gibt auch in Anwesenheit von größeren Schwefel- und Stickstoffmengen sehr gute Resultate. Es ist einfach, rasch und verläßlich.

*Die Sauerstoffbestimmung in Kohlen durch Hydrierung* nach ter Meulen[4] wurde von H. Guérin und P. Marcel[5] zu einem Verfahren ausgebildet, das recht genaue Werte liefert und bei Einhaltung gewisser Vorsichtsmaßnahmen auch auf schwefelreiche Kohlen anwendbar ist. Als Katalysator dient reduziertes Nickel mit 2% Thorium, hergestellt nach W. W. Russel u. Mitarb.[6]. Die Reduktion von CO und $CO_2$ erfolgt bei 325° C und einem Umsatz von 2 l Wasserstoff je Stunde quantitativ,

[1] Analyst (London) **71**, 557 (1946).

[2] Bull. Soc. chim. France **1952**, 308. Fac. Sci. Nancy u. École Nation. Supér. des Industries Chimiques.

[3] Diese Z. **118**, 241 (1939); Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, B, 391 (1940).

[4] Ter Meulen u. Heslinga, „Nouvelles méthodes d'analyse chimique organique", Dunod, Paris 1935.

[5] Bull. Soc. chim. France **1952**, 310. Fac. Sci., Nancy u. École Nation. Supér. des Industries Chimiques.

[6] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **5**, 384 (1933); **6**, 381 (1934); **8**, 543 (1936); vgl. diese Z. **106**, 300 (1936); **107**, 207 (1936); **117**, 348 (1939).

wie sich bei Untersuchung bekannter Gasgemische und der Analyse der bisher schwer nach dieser Methode faßbaren Glucose ergeben hat. Der Katalysator erlaubt 20—30 Bestimmungen. Schwefelhaltige Substanzen erfordern Entschwefelung durch reduziertes Nickel bei 150° C, bevor die Gase den Katalysator passieren, sowie eine Blindbestimmung mit einer schwefelhaltigen Substanz ohne Sauerstoff. Solche Verbindungen liefern etwa 2,5 mg Wasser, das in Rechnung zu stellen ist. Es bildet sich aus Schwefelwasserstoff, der sich mit dem stets in reduziertem Nickel befindlichen Nickeloxyd umsetzt. Die Bestimmung wird durch Eisenoxyd, Carbonat und Sulfat als Bestandteile der Kohlenasche gestört (Silicate stören nicht).

H. Freytag.

**Über Alkalitätsmessungen in der Pflanzenasche** berichtet D. Bourdon[1]. Es wird zwischen einer „wasserlöslichen Alkalität" der Asche, die auf $K_2O$ und $Na_2O$ beruht, und einer „wasserunlöslichen Alkalität" unterschieden, die auf den Gehalt des pflanzlichen Materials an Phosphaten und Carbonaten des Calciums und Magnesiums zurückzuführen ist. Zur *Bestimmung der „wasserlöslichen Alkalität"* wird die rein weiße Asche von 1—2 g pflanzlichem Ausgangsmaterial in mehreren Portionen mit 10—15 ml Wasser von 50° C übergossen, unter Umrühren mit einem abgeplatteten Glasstab dekantiert und über ein Durieux-Filter Nr. 111 filtriert. In der Regel genügen zum Lösen von $K_2O$ und $Na_2O$ 100—125 ml warmes Wasser, was durch Analysen von Sonnenblumen-, Gersten-, Klee- und Rübenasche belegt wird. Die Titration wird mit 0,04 n Salzsäure bei Gegenwart von 3 Tropfen Bromkresolgrün durchgeführt (Umschlag bei $p_H$ 4,4). — *Zur Bestimmung der Gesamtalkalität* wird die Asche in 20—25 ml Wasser unter Erhitzen zum Sieden gelöst, wobei man in die siedende Flüssigkeit 5 ml n Säure (Salz-, Schwefel- oder Perchlorsäure) zufließen läßt. Nach Beendigung der Kohlensäureentwicklung wird filtriert, 3—4mal mit kochendem Wasser ausgewaschen und nach dem Abkühlen der Säureüberschuß mit 0,04 n Natronlauge gegen Bromkresolgrün oder Methylorange titriert. Die Differenz zwischen Gesamtalkalität und wasserlöslicher Alkalität wird als „wasserunlösliche Alkalität" bezeichnet. J. Koch.

**Kobalt und Kupfer in Pflanzen** wurden nach gleichen Methoden in mehreren Laboratorien an drei gleichen, sorgfältig gemischten Materialien (Alfafa, Thimothee, Buchweizenmehl) bestimmt. Über die Ergebnisse berichtet K. C. Beeson[2]. Die zur Kobaltbestimmung benutzte Nitrokresolmethode von Gregory, Morris und Ellis[3] ergab bei niedrigem Kobaltgehalt verhältnismäßig gut übereinstimmende, bei höherem Gehalt aber stärker streuende Werte. Nach Erörterung einiger Fehlermöglichkeiten der Nitrokresolmethode wird der bekanntere Nitroso-R-Salzmethode die größere Zuverlässigkeit zugesprochen. — Die Kupferbestimmungen (Carbamat-Methode)[4] ergaben ohne Schwierigkeit gute Übereinstimmung. F. Neumann.

**Zur Bestimmung von Zink in Pflanzen** hatten in einer früheren Arbeit[5] Eunice J. Heinen und E. J. Benne die A.O.A.C.-Methode (photometrisch als Dithizonat) in Richtung auf geringeren Geräte- und Zeitaufwand vereinfacht. Neuerdings[6] teilen die Verf. gut übereinstimmende Parallelbestimmungen nach ihrer Methode

[1] Ann. Falsificat. Fraudes **45**, 185 (1952).

[2] J. Assoc. off. agric. Chemists **35**, 402 (1952). US. Dep. Agriculture, Ithaca, N. Y.

[3] J. Assoc. off. agric. Chemists **34**, 170 (1951).

[4] J. Assoc. off. agric. Chemists **33**, 819 (1950).

[5] J. Assoc. off. agric. Chemists **34**, 692 (1951).

[6] J. Assoc. off. agric. Chemists **35**, 397 (1952); Agricult. Exper. Station, East Lansing, Mich. (USA).

an Alfalfa und außerdem Vergleichsuntersuchungen an zinkphosphidhaltigem Getreide nach ihrer und der A.O.A.C.-Methode (Quecksilber(II)-thiocyanatmethode) mit, die in Anbetracht der Inhomogenität der Proben ebenfalls gut übereinstimmen. F. NEUMANN.

**Zur Bestimmung von Bor in Pflanzengewebe** haben D. MACDOUGALL und D. A. BIGGS[1] die Chinalizarin-Methode der Assoc. Offic. Agr. Chemists[2] insofern abgeändert, als sie die Chinalizarinkonzentration in 98%iger Schwefelsäure von 5 auf mindestens 20 mg im Liter erhöht und dadurch den Anwendungsbereich von bisher nur 0,2 auf 0,8 µg B erweitert haben. Eine darüber hinausgehende Steigerung der Chinalizarinkonzentration auf 45 mg im Liter beseitigt außerdem die bisher immer als lästig empfundene Empfindlichkeit der Farbstoffbildung gegen kleine Schwankungen des Wassergehaltes, weshalb genaue Einhaltung der Schwefelsäurekonzentration von 98% nötig gewesen war. Die hohe Reagenskonzentration erlaubt dagegen die Verwendung gewöhnlicher konzentrierter (96%iger) Schwefelsäure, und Schwankungen des Wassergehaltes von ± 1% sind ohne Einfluß. — Bei höherer Temperatur entwickelt sich die Farbe langsamer als bei tieferer. Kühlt man nach dem Vermischen der Reagenzien mit kaltem Wasser, dann kann man schon nach 20 min colorimetrieren, sonst erst nach frühestens 6 Std. — *Ausführung:* 1 g trockenes Pflanzenmaterial tränkt man mit 5 ml gesättigtem Kalkwasser, trocknet bei 105° C, erhitzt vorsichtig, bis die organische Substanz sich zersetzt hat, und verascht 1 Std bei 600° C. Die Asche extrahiert man mit 15 ml 0,36 n Schwefelsäure und filtriert. 1 ml Filtrat vermischt man mit 10 ml Chinalizarinreagens (45 mg in 1 l 96%iger Schwefelsäure) und läßt verschlossen 24 Std stehen. Danach ermittelt man die Durchlässigkeit der Mischung bei 620 mµ im Vergleich zu einem ebenso angesetzten Blindversuch ohne Bor. — Von etwa störenden Ionen wird Nitrat beim Veraschen zerstört, Chrom und Fluor kommen normalerweise in Pflanzen nur in so geringen Mengen vor, daß ihr Einfluß vernachlässigt werden kann. F. NEUMANN.

**Oxalate in frischen Pflanzen** lassen sich nach C. J. L. BAKER[3] quantitativ mit heißer, etwa n Salzsäure extrahieren, nach dem Enteiweißen des Extraktes durch Phosphorwolframsäure mit Calciumchlorid bei $p_H$ 4,5 als Calciumoxalat in reinem Zustande fallen und wie üblich mit Permanganatlösung titrieren. *Ausführung.* Man zerkleinert 60 g frisches Pflanzenmaterial unter Zusatz von 100 ml Wasser möglichst fein, fügt auf je 10 ml Brei 2 ml verdünnte Salzsäure (1:1) hinzu, kocht 15 min (1–2 Tropfen Caprylalkohol als Entschäumer), verdünnt in einem Meßkolben auf 500 ml, läßt über Nacht stehen und filtriert. 25 ml Filtrat versetzt man mit 5 ml einer Lösung, die im Liter außer Wasser 24 g Natriumwolframat und 40 ml sirupöse Phosphorsäure (D 1,75) enthält, läßt 5 Std stehen und zentrifugiert. 20 ml der klaren überstehenden Lösung neutralisiert man mit Ammoniak, gibt 5 ml Calciumchlorid-Pufferlösung hinzu (25 g $CaCl_2$ + 250 ml Eisessig + 330 g Natriumacetat + Wasser zu 1 l), läßt über Nacht bei 5–7° C stehen, zentrifugiert und wäscht das Calciumoxalat mit 20 ml Waschlösung (mit Calciumoxalat gesättigte 5%ige Essigsäure), löst es unter Erwärmen in 5 ml 10%iger Schwefelsäure und titriert die Oxalsäure mit 0,02 n Kaliumpermanganatlösung. — Die wasserlöslichen Oxalate in Pflanzen (Salzsäure bei der Extraktion weglassen) bestimmt man fast genau auf dieselbe Weise. Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Methode sind gut. F. NEUMANN.

---

[1] Analyt. Chemistry **24**, 566 (1952). Ontario Agricult. College, Guelph, Ontario (Canada).

[2] „Official Methods of Analysis", 7. Aufl., S. 117, 1950.

[3] Analyst. (London) **77**, 340 (1952). Ministry Agric., Fisheries, Anstey Hall, Trumpington, Cambridge (England).

**Über die Klärung von Blätterextrakten zur Zuckerbestimmung** teilt K. T. Williams[1] Versuche mit. Während in einigen Fällen Filtration durch Celite-Filterhilfe genügt, ist neutrales Bleiacetat allgemeiner anwendbar. Immer aber erhält man die besten Ergebnisse mit bestimmten *Ionenaustauscherharzen*, weil dadurch gleichzeitig gefärbte Lösungen völlig entfärbt werden, was z. B. die Anwendung von Ferricyanidmethoden zur Zuckerbestimmung erleichtert. F. Neumann.

**Die quantitative Bestimmung von Stärke in Pflanzen** bereitet immer noch Schwierigkeiten, weil die völlige Befreiung der extrahierten Stärke von störenden Begleitstoffen bisher nicht möglich ist. Nach nicht ganz befriedigenden Ergebnissen mit der Methode von G. W. Pucher, C. S. Leavenworth und H. P. Vickery[2] ändert C. L. Hoffpauir[3] sie im letzten Teil ab, indem er die Hydrolyse der Stärke und Bestimmung der reduzierenden Zucker durch die direkte Stärkebestimmung mit Anthron ersetzt. Die Ergebnisse zeigen aber weder bei Parallelbestimmungen noch im Vergleich zu den nach anderen Methoden erhaltenen Werten die erwartete Übereinstimmung. — *Arbeitsweise*: 50—250 mg trockenes Pflanzenpulver kocht man zur Extraktion der Stärke 2mal je 15 min mit je 5 ml Calciumchloridlösung (D. 1,30), verdünnt jedesmal mit 20 ml Wasser und zentrifugiert. Zur Eiweißabscheidung versetzt man die vereinigten Extrakte mit 3 ml 5%iger Uranylacetatlösung, verdünnt auf 100 ml und zentrifugiert einen aliquoten Teil. Zu je 10 ml der klaren überstehenden Lösung fügt man 5 ml 20%ige Kochsalzlösung und 2 ml Jod-Jodkaliumreagens (Wasser mit je 3% $J_2$ und KJ), worauf sich der Jod-Stärkekomplex abscheidet, der nach dem Stehen über Nacht zentrifugiert, mit alkoholischer Kochsalzlösung (350 ml Äthanol — 50 ml 20%ige Kochsalzlösung auf 500 ml mit Wasser eingestellt) gewaschen, mit 0,25 n wäßrig-alkoholischer Natronlauge (70% Äthanol) vom Jod befreit und wieder mit alkoholischer Kochsalzlösung gewaschen wird. Die Stärke löst man durch Aufkochen in Wasser und Verdünnen auf 250 ml. 5 ml der Lösung versetzt man mit 10 ml Anthronreagens (1 g Anthron in 500 ml 95%iger Schwefelsäure), erhitzt 7,5 min in siedendem Wasser, kühlt schnell auf 25° C und mißt die Farbstärke bei 630 mμ. Farbstandards mit reiner Stärke oder Glucose müssen mit ebensoviel Calciumchlorid angesetzt werden wie die untersuchten Pflanzen, weil Salze die Farbe verstärken.

F. Neumann.

**Bei der Apparatur zur Serienbestimmung von Carotin in Pflanzenprodukten,** die W. Irion und P. Moldrickx[4] beschreiben, handelt es sich um eine 10stellige Adsorptionsbatterie. Jeder Einzelapparat besteht aus einem Adsorptionsrohr, das am oberen Ende eine 5—6 cm lange zylindrische Erweiterung trägt, einem Absaugeaufsatz und einem 50 ml-Meßzylinder, die durch Normalschliffe miteinander verbunden sind.

Die Extraktion der Pflanzensubstanz wird nach einer Schnellmethode von M. Becker vorgenommen: 5—20 g Substanz werden im Gemisch mit 150 ml Methanol und 75 ml Benzin in einem Extraktionszerkleinerer (System Turmix) 2—3 min extrahiert. Der Extrakt wird durch eine Glasfilternutsche (G 3) gegeben und mit wenig Benzin nachgewaschen. Das Filtrat wird im Scheidetrichter mit ungefähr 30 ml Wasser versetzt, wodurch sich Benzin vom Methanol trennt. Das

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **35**, 402 (1952). West. Region. Res. Lab., Albany, Calif. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **20**, 850 (1948).

[3] J. Assoc. off. agric. Chemists **35**, 398 (1952). South. Region. Res. Lab., New Orleans, Louisiana.

[4] Landwirtsch. Forsch. **3**, 209 (1952). Forschungsanst. für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkerode.

Carotin befindet sich in der oberen Benzinschicht, wird von der Methanol-Wasserschicht abgetrennt und mit $CaCl_2$ getrocknet. Die so gewonnene Carotinlösung wird mit leichtem Unterdruck in die Adsorptionssäule eingesaugt und das Chromatogramm mit einem Benzin-Benzolgemisch (4:1) entwickelt. Das Chlorophyll und die verschiedenen Carotinoide befinden sich zunächst im oberen Teil der Säule, wandern dann langsam nach unten, bleiben aber in der Säule, während Carotin von vornherein fast nach unten durchdringt und sehr rasch quantitativ ausgewaschen werden kann. Die ausgewaschene Carotinlösung wird mit Benzin auf 50 ml aufgefüllt und im Colorimeter unter Vorschaltung eines Interferenzfilters von 452 m$\mu$ oder 426 m$\mu$ gemessen. An einer mit reinem $\beta$-Carotin hergestellten Eichlinie wird der mg-Gehalt an Carotin abgelesen.

Die Methode wurde mit dem Verfahren von V. H. Booth[1] verglichen, bei welchem das Extraktionsgut mit Leichtbenzin bei 90° C erhitzt wird. Die Resultate stimmen gut überein. W. Grütz.

**Zur Bestimmung von Phytosterinen** wurde von D. Waghorne und Ch. D. Ball[2] eine Halbmikromethode ausgearbeitet. Dabei wird der Niederschlag der Phytosterine, der sich mit Digitonin (Digitalissaponin) bildet, durch Kaliumdichromat in schwefelsaurer Lösung oxydiert und das überschüssige Dichromat mit Eisen(II)-salzlösung zurücktitriert.

Die Extraktion des Pflanzenmaterials und die anschließende Reinigung des Extraktes wird nach M. E. Wall und E. G. Kelley[3] vorgenommen. Ein 0,25—1,0 g Trockensubstanz entsprechender Teil des Extraktes mit 0,25—1 mg Sterin wird der Adsorption durch MgO und „Super-Cel" (Kieselgur) unterworfen, das Eluat auf einem Dampfbad zur Trockne eingedampft, der Rückstand abgekühlt, mit Hexan aufgenommen und direkt in ein 15 ml Zentrifugierglas filtriert. Das Hexan wird durch Erhitzen mit Dämpfen von kochendem 95%igen Alkohol in einem „Evaporator" restlos vertrieben und der Rückstand mit 5 ml absoluten Alkohol völlig gelöst. Dann fügt man 2 ml einer 1%igen Digitoninlösung in 80%igem Äthanol zu, erhitzt noch etwa 1 min weiter und läßt das Zentrifugierrohr über Nacht in einem verschlossenen Glas über einer Schicht von 80%igem Äthanol stehen. Am anderen Tag zentrifugiert man mit 3000 Umdrehungen je min ½ Std lang, saugt die überstehende Flüssigkeit mit einer Capillare ab und entfernt das überschüssige Digitonin durch mehrmaliges Waschen mit 80%igem Äthanol. Zur Entfernung der Lipoide wird schließlich 2mal mit Äther gewaschen. Zu dem getrockneten Niederschlag fügt man eine abgemessene Menge Kaliumdichromatlösung (29,422 g $K_2Cr_2O_7$ in 100 ml Wasser gelöst und mit konz. Schwefelsäure auf 1 l aufgefüllt), erhitzt 3½—4 Std auf einem Dampfbad und spült dann mit 40—50 ml Wasser quantitativ in ein Becherglas. Der Überschuß an Dichromat wird mit 0,1 n Ammoniumeisen(II)-sulfatlösung (in m Schwefelsäure) unter Verwendung von Ferroin als Indicator titriert.

Mit dieser Methode werden sowohl die gesättigten als auch die ungesättigten Sterine in Mengen bis zu 0,1 mg herab erfaßt. Die Genauigkeit ist besser als ± 3%. W. Grütz.

**Zur Bestimmung der Bodenatmung und der Carbonate im Boden** hat H. Isermeyer[4] eine einfache Versuchsanordnung benutzt. Die Bodenproben werden in 1 Liter fassende, luftdicht verschlossene Gläser in Glasschalen schwebend einge-

[1] Analyt. Chemistry **21**, 957 (1949); vgl. diese Z. **131**, 160 (1950).

[2] Analyt. Chemistry **24**, 560 (1952). Ontario Agricult. College, Guelph, Ontario, (Canada), und Michigan State College, East Lansing, Mich. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **19**, 677 (1947).

[4] Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **56**, 26 (1952). Hochschule f. Gartenbau u. Landeskultur, Hannover.

hängt. Am Boden der Gläser befindet sich eine gemessene Menge eingestellter Barytlauge. Das absorbierte Kohlendioxyd wird durch Titration mit Salzsäure ermittelt. Das während der Titration von der Außenluft und das aus der Luft innerhalb des Glases aufgenommene Kohlendioxyd muß in einem Blindwert ermittelt und abgezogen werden. Zur Kontrollbestimmung des Kohlendioxyds aus Calciumcarbonat wird dieses im feinverteilten Zustand in verschlossenen Gläsern mit 5 ml 25%iger Schwefelsäurelösung behandelt und die Barytlauge nach 15stündiger Einwirkungszeit titriert. Trotz der einfachen Versuchsanordnung lagen die größten Abweichungen der Einzelbestimmungen bei 0,015 mval, wodurch die Methode eine befriedigende Genauigkeit für die Zwecke der Bodenuntersuchung erreicht.

W. Grütz.

**Ein Verfahren zur colorimetrischen Humusbestimmung im Boden,** das es ermöglicht etwa 100 Bodenproben täglich zu untersuchen, wurde von H. Westerhoff[1] ausgearbeitet. Die Humussubstanz wird in schwefelsaurer Lösung mittels Kaliumdichromat oxydiert und die blaugrüne Färbung des entstehenden Chromsulfats im Stufenphotometer unter Verwendung des Farbfilters S 57 gemessen. Diese Methode stellt eine wesentliche Vereinfachung der Humusbestimmung mittels Kaliumdichromat von F. Alten, B. Wandrowski und E. Knippenberg[2] und von E. Rauterberg und F. Kremkus[3] dar, und ist hinreichend genau. — 1 bis 5 g Feinboden werden in einen 100 ml-Meßkolben eingewogen und mit etwa 15 ml 10%iger Kaliumdichromatlösung versetzt. Dazu werden 12 ml konz. Schwefelsäure langsam unter Umschütteln zugefügt und der Kolbeninhalt etwa 10 min im schwachen Sieden gehalten. Nach Abkühlen wird aufgefüllt und colorimetriert. W. Grütz.

## 3. Auf Pharmazie bezügliche Methoden.

**Um die Prüfung pharmazeutischer Chemikalien auf Verunreinigungen durch Schwermetalle (Blei)** einheitlicher zu gestalten schlugen F. N. Stewart und C. W. Strode jr.[4] ein Schema vor, wonach die Lösung, die nach 8 Gruppen vorgenommen wird, bei $p_H$ 3—4 mit Schwefelwasserstoffwasser versetzt und die entstandene Färbung auf ihre Absorption in Photoelektrometer gegen eine Standard-Bleisulfidfärbung bestimmt wird. Die Genauigkeit soll bei einem Gehalt von 1 bis 30 $\mu$g etwa 2 $\mu$g betragen. — Je 4 g der zu prüfenden Chemikalien werden nach folgenden Gruppen in einem 100 ml-Meßkolben gelöst. 1. Schwache Säuren löst man in 50 ml Aceton und ergänzt mit Wasser auf 100 ml. 2. Wasserlösliche neutrale Verbindungen löst man mit 40 ml Wasser, 8 ml 6%iger Essigsäure, 50 ml Aceton und Wasser auf 100 ml. 3. Salze schwacher Säuren löst man mit wenig Wasser, einer dem Kation äquivalenten Menge n Salzsäure, 50 ml Aceton und ergänzt mit Wasser auf 100 ml. 4. Bei starken Säuren oder Basen, Puffern, die eine $p_H$-Einstellung erfordern, stellt man die Lösung in 40 ml Wasser mit 10%iger Salzsäure oder konz. Ammoniak auf $p_H$ 3,5 durch Tüpfelpapier oder $p_H$-Meter ein, und gibt 50 ml Aceton sowie Wasser bis 100 ml zu. 5. Acetonlösliche neutrale Verbindungen behandelt man mit 50 ml Aceton, 8 ml 6%iger Essigsäure und füllt

[1] Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **56**, 49 (1952). Landw. Untersuchungsamt, Versuchsanst. d. Landw.-Kammer Weser-Ems, Oldenburg.

[2] Ergebn. Agrikulturchem. 4, 61 (1935); vgl. diese Z. **122**, 455 (1941).

[3] Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde **54**, 240 (1951); vgl. diese Z. **137**, 236 (1952/53).

[4] J. Amer. pharmac. Assoc., Sci. Edit. **41**, 242 (1952). J. F. Queeny plant, Monsanto Chemical Co., St. Louis, Mo. (USA).

mit Wasser auf 100 ml. 6. Von schwerlöslichen Verbindungen erwärmt man Pulver 5 min mit 20 ml 10%iger Salzsäure und saugt die klare, überstehende Flüssigkeit ab; Öle extrahiert man mit eben der Säure und filtriert durch ein nasses Filter. Das Filtrat oder den Extrakt versetzt man mit 2 Tropfen 0,1%igem p-Nitrophenol, titriert auf schwaches Hellgelb mit konz. Ammoniak und fügt 8 ml 6%ige Essigsäure, 50 ml Aceton und Wasser bis 100 ml zu. 7. Tiefgefärbte organische Verbindungen und Sulfidbildner behandelt man mit 8 ml konz. Schwefelsäure, schließlich unter Erwärmung bis zur Verkohlung, dann mit 30%igem Wasserstoffperoxyd tropfenweise bis zur Entfärbung, kühlt, fügt 10 ml Wasser und 2 Tropfen 0,1%iges p-Nitrophenol zu, titriert und behandelt weiter wie bei Nr. 6. 8. Flüchtige Flüssigkeiten dampft man auf dem Wasserbade ab und löst den Rückstand mit 8 ml 6%iger Essigsäure, 50 ml Aceton und Wasser bis 100 ml. — Von der so vorbereiteten Lösung gibt man je 50 ml in zwei 100 ml-Meßzylinder oder Nessler-Röhren, fügt noch 25 ml Aceton hinzu und stellt, wenn nötig, den $p_H$-Wert auf 3,5 ein. Zur einen Hälfte gießt man 20 ml gesättigtes Schwefelwasserstoffwasser und füllt beide Lösungen auf 100 ml auf. Nach genau 10 min mißt man die Absorption einer 150 mm tiefen Schicht im Photoelektrometer mit Breitbandfilter mit Durchlässigkeitsmaximum bei 420 mμ in beiden Fällen. Außerdem vergleicht man gegen Standardbleisulfidfärbungen, die in Lösungen mit 50 ml Aceton, 20 ml Wasser, 4 ml 6%iger Essigsäure, 20 ml Schwefelwasserstoffwasser auf 100 ml gebracht sind. Auch stellt man das Verhältnis gegen eine Bleisulfidverdünnung von 15 μg fest. H. Zellner.

**Für eine einfache Bestimmung von organisch gebundenem Jod in organischen Präparaten** verwenden B. Zak und A. J. Boyle[1] die Veraschung mit Chlorsäure, die sie aus Kaliumchlorat und Perchlorsäure und Abfiltrieren von dem ausgeschiedenen $KClO_4$ herstellen. Man versetzt die organische Substanz mit 10–25 ml der Chlorsäurelösung und verdampft bis zum Auftreten von Perchlorsäuredämpfen. Das dann in Form von Jodat vorhandene Jod kann entweder titrimetrisch oder polarographisch oder spektrophotometrisch bestimmt werden. *Zur titrimetrischen Bestimmung* neutralisiert man mit Natronlauge gegen Phenolphthalein, säuert dann mit 1 ml Phosphorsäure (1:1) und 1 ml Salzsäure (1:10) an, versetzt mit Cadmiumjodid-Linearstärkereagens[2] und titriert mit 0,1 n, 0,01 n oder 0,001 n Thiosulfatlösung je nach der vorhandenen Jodmenge. *Zur polarographischen Bestimmung* macht man die Lösung mit $Na_2SO_3$ enthaltender 0,2 n Natronlauge alkalisch und nimmt das Polarogramm wie üblich auf. Das Halbstufenpotential liegt bei —1,13 V gegen die (gesättigte?) Kalomelelektrode. — *Spektrophotometrische Bestimmung.* Die nach Zusatz von Kaliumjodid entstehende Lösung von freiem Jod zeigt 2 Absorptionsmaxima bei 288 und 353 mμ, wobei das letztere Maximum bei höheren Konzentrationen gebraucht wird. Die Beispiele für eine Reihe organischer Präparate zeigen gute Werte. K. Hinsberg.

**Die colorimetrische Bestimmung von Salicylaten** auf Grundlage der bekannten Farbreaktion mit Eisen war Gegenstand einer eingehenden Untersuchung von R. E. Pankratz und F. J. Bandelin[3] mit Berücksichtigung pharmazeutischer Präparate. Die erforderlichen Eichkurven gewinnt man wie folgt: In 9 50 ml-Meßkolben pipettiert man jeweils 5—45 ml der Salicylsäurevergleichslösung und je 5 ml

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., Sci. Edit. **41**, 260 (1952). Wayne Univ., Detroit, Mich. (USA).

[2] Vgl. J. L. Lambert, Analyt. Chemistry **23**, 1247, 1251 (1951); vgl. diese Z. **136**, 299 (1952).

[3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 267 (1952). Control Lab., Flint, Eaton and Co., Decatur, Ill. (USA).

Eisen(III)-nitratreagens und füllt zur Marke auf. Die Stammlösung enthält 0,5 g Salicylsäure, die nach Auflösen in 15 ml 95 Vol%igem Äthanol mit Wasser auf genau 100 ml verdünnt wird. Verdünnung von 5 ml dieser Stammlösung mit Wasser auf 1 l führt zur Vergleichslösung mit 25 $\mu$g Salicylsäure je ml. Das Eisen(III)-nitratreagens erhält man durch Auflösen von 1 g $Fe(NO_3)_3 \cdot 9\ H_2O$ in 100 ml 1%iger Salpetersäure. Die spektrophotometrische Messung erfolgt bei 525 m$\mu$; das Beersche Gesetz ist erfüllt. Die Neigung der Eichgeraden beträgt 71,43 $\mu$g ml. Von *Natriumsalicylat* löst man 0,5 g in 200 ml Wasser und verdünnt 10 ml dieser Lösung auf 1 l. Man verfährt hierauf wie für Salicylsäure beschrieben; Neigung 83,03 $\mu$g ml. Von *Salicylsalicylsäure* werden 0,25 g im 200 ml-Meßkolben in 25 ml Äthanol gelöst und mit 25 ml frisch bereiteter 10%iger Kalilauge versetzt. Man beläßt mit leicht aufgesetztem Stopfen 2 Std auf dem Dampfbad, fügt 5 ml konzentrierte Salzsäure nach der Abkühlung zu und füllt zur Marke mit Wasser auf. 10 ml dieser Lösung verdünnt man auf 500 ml und verfährt sonst wie angegeben. Die Neigung der Eichkurve beträgt 66,67 $\mu$g/ml. In völlig gleicher Weise wie vor wird mit der *Succinylsalicylsäure* verfahren, nur wird die Einwaage in einem 250 ml-Meßkolben behandelt; Neigung: 92,31 $\mu$g/ml. Von der *Acetylsalicylsäure* wägt man 0,75 g für 200 ml Stammlösung ab bei sonst gleicher Verfahrensweise; Neigung: 93,17 $\mu$g ml. Von *Phenylsalicylat* sind 0,4 g einzuwägen; Neigung 110,77 $\mu$g ml. 0,5 g *Methylsalicylat* werden im 200 ml-Meßkolben nacheinander mit 25 ml Äthanol, 25 ml Wasser und 2,5 g Kaliumhydroxyd versetzt. Nach zweistündigem Erhitzen auf dem Dampfbad und Abkühlung wird zur Marke verdünnt. Die Neigung der Eichkurve beträgt 79,13 $\mu$g. *Natriumsalicylat-Bestimmung in Ampullenflüssigkeit.* 5 ml der 2,0 g Salicylat enthaltenden Lösung werden auf 250 ml, und 5 ml davon auf 100 ml verdünnt. 5 ml dieser letzten Lösung verwendet man zur beschriebenen Messung. Von *Natriumsalicylat-Elixier N.F.* verdünnt man 10 ml auf 1 l und 10 ml davon auf 100 ml. 10 ml dieser Lösung benutzt man für die Bestimmung. *Theobromin-Natriumsalicylattabletten.* Etwa 20 Stück werden fein gepulvert und eine etwa 0,3 g Salicylsäure äquivalente Menge im 500 ml-Meßkolben mit Wasser gelöst. 20 ml dieser Lösung verdünnt man ebenfalls auf 500 ml, überträgt hiervon 15 ml in einen 50 ml-Meßkolben, setzt 5 ml Reagens hinzu und photometriert nach Auffüllung zur Marke. *Acetylsalicylsäure in Aspirin, Phenacetin und Coffein* kann nach vorangehender Extraktion auf diese Art bequem ermittelt werden. H. Freytag.

**Die Bestimmung von p-Oxybenzoesäuremethylester bzw. -propylester** kann nach L. K. Sharp[1] gegenüber der Vorschrift des Dänischen Arzneibuchs (1948) durch Weglassen der Verseifung vereinfacht werden. *Arbeitsweise.* Etwa 1 g des genau gewogenen Esters wird in einer Mischung von 2 ml einer 20%igen Lösung (Gew/Vol) von NaOH und 20 ml Wasser kalt gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. 20 ml dieser Lösung werden sofort in einer Glasstopfenflasche mit 50 ml 0,1 n Bromlösung und 6 ml Salzsäure versetzt und umgeschüttelt. Man läßt unter häufigem Umschütteln 40 min (Methylester) oder 20 min (Propylester) stehen. Dann gibt man 10 ml einer 10%igen Lösung (Gew Vol) von Kaliumjodid hinzu und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung. 1 ml 0,1 n Bromlösung entspricht 0,003802 g Methylester bzw. 0,004505 g Propylester. H. Sperlich.

**Vergleichende Untersuchungen über die Bestimmung der Ester der p-Oxybenzoesäure in reinen Lösungen und in Lebensmitteln** führten A. Guillaume und A. Mehl[2] aus. Es wurde festgestellt, daß die Methoden, mit denen Phenole bestimmt werden, auch auf die Ester der p-Oxybenzoesäure erstreckt werden können, die zur

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 648 (1952). School of Pharm., Univ. London.

[2] Ann. Falsificat. Fraudes **44**, 383 (1951); **45**, 272 (1952). Pharm. Inst., Univ. Straßburg.

Konservierung von Lebensmitteln Anwendung finden. — *Bestimmung in reinen wäßrigen Lösungen.* Es sind 3 Methoden möglich, die sich alle gut bewähren. — 1. *Gravimetrische Methode* nach P. Bougault[1]. 0,2 g Ester versetzt man in einem Erlenmeyer-Kolben mit 20 ml Wasser und 1 g $Na_2CO_3$ (oder mit 5 ml Natronlauge, D 1,33), füllt auf 100 ml auf, erhitzt im siedenden Wasserbad und fügt nach und nach 15 ml n Jodlösung zu. Nach 1 Std nimmt man vom Wasserbad, kühlt ab, säuert mit verdünnter Schwefelsäure an und entfernt durch $SO_2$-Zusatz das freie Jod. Der Niederschlag wird abfiltriert, heiß ausgewaschen, bis die abtropfende Flüssigkeit nicht mehr mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung reagiert, bei 100° C getrocknet und gewogen. 1 g Niederschlag ($C_6H_2J_2O$) entspricht 0,442 g Methylester oder 0,524 g Propylester. — 2. *Titrimetrische Bestimmung* nach F. Reimers[2]. In einem 250 ml-Jodkolben wird eine wäßrige Lösung von 0,1 g Ester mit 10 ml n Natronlauge 15 min im Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen gibt man 50 ml 0,1 n Kaliumbromatlösung und 5 g KBr zu, schüttelt um und säuert mit 15 ml 10%iger Salzsäure an. Man schüttelt 2 min gut um und stellt den Kolben 15 min ins Dunkle. Nun fügt man 10 ml 10%ige KJ-Lösung zu, schüttelt 2 min und titriert mit 0,1 n Thiosulfatlösung bis zur schwachen Gelbfärbung und nach Zusatz von 1 ml Stärkelösung zur Entfärbung. 1 ml 0,1 n $KBrO_3$-Lösung entspricht 0,002534 g Methylester, 0,002768 g Äthylester, 0,003002 g Propylester oder 0,003802 g Benzylester. — 3. *Colorimetrische Bestimmung* nach Th. Sabalitschka[3]. Man bereitet eine 0,1%ige wäßrige Stammlösung des Methylesters und gibt in 10 kalibrierte Röhrchen von 0,5—5,0 ml steigende Mengen der Lösung (0,01—0,1 $\mu$g der Probe), die mit Wasser auf 5 ml aufgefüllt werden. In jedes Röhrchen bringt man nun 1 Tropfen $HNO_3$ und 0,5 ml Millons Reagens. Im 11. Röhrchen befinden sich 5 ml der zu untersuchenden Lösung des Konservierungsmittels. Nach 1—2stündigem Stehen bei 37° C vergleicht man die Intensität der entstandenen Färbungen. Wenn der zu bestimmende Ester nicht der Methylester ist, multipliziert man das Resultat mit $C = \frac{a}{152}$ ($a$ = Mol.-Gew. d. betreffenden Esters); Für Nipasol-Nipagin-Mischungen wird ein Mol. Gew. von 173 eingesetzt.

Bei der *Bestimmung* der Ester *in flüssigen fettfreien Lebensmitteln*, z. B. Wein, verfahrt man wie folgt: a) *Gravimetrische oder titrimetrische* Methode: In einen 500 ml Scheidetrichter gibt man zu 150 ml Flüssigkeit 5 ml 25%ige Schwefelsäure, schüttelt gut um und extrahiert 3mal mit je 50 ml und 2mal mit je 25 ml Äther. Die Ätherauszüge werden vereinigt und abgedunstet. Den Rückstand nimmt man in 10 ml Wasser auf und bestimmt darin die Ester. b) Zur *colorimetrischen Bestimmung* benutzt man einen 250 ml-Scheidetrichter, in dem 5 ml der Lösung mit 15 ml Wasser und 2 ml kochendem Wasser versetzt werden. Die Mischung füllt man in einem Meßkölbchen zur Marke auf und colorimetriert in der vorher angegebenen Weise. — Von *festen fettfreien Lebensmitteln* werden 150 g (zur gravimetrischen und titrimetrischen Bestimmung) oder 5 g (zur colorimetrischen Bestimmung) im 250 ml-Rundkolben nach Zusatz von 2 bzw. 5 ml 25%iger Schwefelsäure und 50 ml Äther während 1 Std auf dem Wasserbad unter Rückflußkühlung erhitzt. Mit je 25 ml Äther macht man einen 2. und 3. Auszug. In den gesammelten Ätherlösungen führt man die Bestimmung in der oben beschriebenen Weise aus. Bei *festen oder flüssigen, fetthaltigen Lebensmitteln* gibt man zunächst 50 ml Äther zu und verseift in einem 250 ml-Kolben mit 15 ml 5%iger KOH-Lösung durch 30minutiges Erhitzen auf dem Wasserbad. Nach dem Abkühlen trennt man von der wäßrigen alkalischen Lösung, säuert die Ätherlösung mit 15 ml 25%iger Schwefelsäure an und extrahiert

[1] J. Pharmac. Chim. **28**, 145 (1908); vgl. diese Z. **49**, 619 (1910).

[2] Analyse chimique **122**, 404 (1940); siehe auch diese Z. **122**, 404 (1941).

[3] Mikrochim. Acta **2**, 111 (1937); vgl. diese Z. **117**, 154 (1939).

auf dem Wasserbad nacheinander mit 50 und 25 ml Äther. – Liegen *Emulsionen* vor, so müssen diese (150 ml oder 200 g) zuerst zerstört werden, indem man sie mit 2 ml 25%iger Schwefelsäure zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen klärt man durch Zusatz von 8 Tropfen gesättigter Zinksulfatlösung, 2 Tr. 10%iger Kaliumferrocyanidlösung und Kieselgur. Die Lösung wird nach Filtration in bekannter Weise mit Äther extrahiert. — Liegen die *Ester der p-Oxybenzoesäure neben Salicylsäure* vor, so ist eine Trennung auf Grund der verschiedenen Löslichkeit in Äther möglich. Durch Extraktion mit Äther kann man beide Konservierungsmittel von dem betreffenden Lebensmittel abtrennen. Behandelt man nun die ätherische Lösung mit einer 5%igen Natriumhydrogencarbonatlösung bis zur Alkalität, so geht das Na-Salz der Salicylsäure in die wäßrige Phase, während die Ester der Benzoesäure in der ätherischen bleiben. J. Koch.

**Barbiturate und Sulfonamide** (außer Sulfaguanidin) können nach V. Vespe und J. S. Fritz[1] in Dimethylformamid (DMF) mit Natriummethylat in Benzol-Methanol volumetrisch bestimmt werden. — *Arbeitsweise.* 0,3 –0,8 Milliäquivalente der Substanz werden in 20—30 ml DMF gelöst, mit 2–3 Tropfen Thymolblaulösung (0,3 g/100 ml Methanol) versetzt und mit 0,1 n Natriummethylatlösung bis auf einen klarblauen Farbton titriert. (3 g Na werden unter Ausschluß von $CO_2$ in 50 ml Methanol gelöst und zu der Lösung 100 ml Methanol und 750 ml Benzol gegeben; Titerstellung mit Benzoesäure.) Bei der Titration ist möglichst für Ausschluß von $CO_2$ zu sorgen (kleine Kölbchen oder Abdecken der Bechergläser mit Kartenblättern). Bei der Berechnung wird der Blindwert von DMF berücksichtigt. Die üblichen Tablettenmassen (Stärke, Zucker, Magnesiumstearat) stören nicht. Magnesiumtrisilicat und Kaolin verbrauchen für je 0,5 g ungefähr 0,1 n Na-methylatlösung. Coffein stört ebenfalls nicht; dagegen muß Theobromin vor der Titration durch Extraktion mit Chloroform entfernt werden. Wasser bewirkt teilweise Hydrolyse von DMF, wenn mehr als Spuren anwesend sind. Enole, Imide und andere saure Verbindungen stören die Bestimmung. H. Sperlich.

**Für die mikrochemische Identifizierung von Sulfonamiden** eignen sich nach H. Kaiser und W. Lang[2] die Schwermetalljodidkomplexe dieser Verbindungen. Man benötigt 3 Reagenzien. Sie enthalten in je 10 ml 1 ml konz. Salzsäure, 3,0 g Kaliumjodid und außerdem entweder 3,0 ml Eisen(II)-chloridlösung (Liqu. Ferri sesquichlorat.) oder 0,3 g Kupfersulfat oder 0,3 g Wismutsubnitrat. — Einige Milligramme des Sulfonamids oder einige abgekratzte Teile der Tablette werden auf einem Objektträger mit 1—2 Tropfen Reagens versetzt und das Präparat mit einem Deckglas bedeckt. Durch Hin- und Herschieben des Deckglases wird das Reagens mit dem Untersuchungsmaterial gründlich zerrieben und gemischt. Dann wird über einer Mikroflamme (Sparflamme des Bunsenbrenners) vorsichtig erwärmt, bis sich Blasen zeigen und eine weitgehende Lösung zwischen Untersuchungsmaterial und Reagens entstanden ist. Dabei ist darauf zu achten, daß die unter dem Deckglas befindliche Substanz nicht durch zu starkes Sieden des Reagenses herausgeschleudert wird. — Die charakteristischen Kristalle, die sofort oder innerhalb von 10 min entstehen, sind in der Originalarbeit an Hand zahlreicher Abbildungen ausführlich beschrieben. Da die oben genannten Reagenzien auch mit Barbitursäurederivaten kristalline Komplexe bilden[3], müssen die Sulfonamide zunächst als solche mittels der üblichen Gruppenreaktionen nachgewiesen werden. H. Sperlich.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 197 (1952). J. F. Hartz & Co., Ferndale, Mich., und Iowa State Coll., Ames (USA).

[2] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **285**, 230 (1952). Katharinenhospital-Apotheke Stuttgart.

[3] W. Lang und H. Stephan, Süddtsch. Apotheker-Ztg. **90**, 739 (1950).

**Über den spektrophotometrischen Nachweis und die Bestimmung von Novocainhydrochlorid (Procainhydrochlorid)** berichtet A. I. Biggs[1]. Die Absorptionskurve von Novocainhydrochlorid in wäßriger Lösung hat Maxima bei 2900 Å und 2210 Å und Minima bei 2400 Å und 2090 Å. Die Extinktionskoeffizienten (1%ige Lösung, 1 cm Schichtdicke) bei 2900 Å und 2210 Å betragen 670 und 320. Diese außergewöhnlich hohen Werte sind in Verbindung mit der Form der Absorptionskurve charakteristisch für Novocainhydrochlorid und ermöglichen die Identifizierung dieser Substanz. Zur quantitativen Bestimmung empfiehlt sich die Absorptionsmessung bei 2900 Å. Das Beersche Gesetz gilt für den Konzentrationsbereich von 0,002—0,00025% (Gew. Vol.). Die Methode erlaubt es, Novocainhydrochlorid in Mengen bis herab zu 0,6 mg in derselben Lösung nachzuweisen und zu bestimmen und eignet sich vor allem dazu, die Zersetzung von Novocainhydrochloridlösungen beim Sterilisieren zu verfolgen. H. Sperlich.

**Über die quantitative colorimetrische Bestimmung von p-Aminobenzoyldiäthylaminoäthanolhydrochlorid (Novocain, Procain, Jenacain = PAD) und p-Aminobenzoesäure (PAB)** nebeneinander berichtet W. Oelssner[2]. Das Verfahren beruht auf der Diazotierung der ringständigen Aminogruppe von PAD bzw. PAB und der Kupplung der Diazoniumsalze mit α-Naphthylamin. Für die Trennung beider Verbindungen wird die unterschiedliche Löslichkeit der entstandenen Azofarbstoffe im sauren bzw. alkalischen Bereich ausgenutzt. Die minimal erfaßbaren Mengen betragen 1 μg PAD bzw. 0,5 μg PAB mit einem mittleren Fehler von ± 5%. Die ausführliche Arbeitsvorschrift möge im Original eingesehen werden. H. Sperlich.

**Für die Bestimmung von Novocain und seiner Hydrolyseprodukte** änderten F. Cotta-Ramusino und R. Monacelli[3] das Verfahren von A. Wankmüller[4] insofern ab, als sie mit kleinerer Einwaage und in größerer Verdünnung arbeiten. Man bestimmt in einem aliquoten Teil der Lösung der Probe durch Bromieren die Summe von Novocain und seines Hydrolyseproduktes p-Aminobenzoesäure. Ein anderer aliquoter Teil der Stammlösung wird mit Natriumcarbonat neutralisiert und mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. In der wäßrigen Schicht ermittelt man ebenfalls durch Bromieren die p-Aminobenzoesäure allein. Aus der Differenz ergibt sich dann die Menge des unveränderten Novocains. Zur Kontrolle kann durch Ausziehen mit Salzsäure und Titration mit Bromat das im Tetrachlorkohlenstoff gelöste Novocain auch bestimmt werden. *Ausführung. Bestimmung des Novocains.* 5—20 ml einer Novocainchlorhydratlösung (3,41—13,64 mg entsprechend) werden in einem Schliffkolben von 100 ml mit 0,02 n Bromat-Bromidlösung in 10—100%igem Überschuß (bezogen auf das vorhandene Novocain) versetzt. Man säuert mit 5 ml 4 n Salzsäure an und verdünnt schließlich mit Wasser auf etwa 50 ml. Nach 15 min langem Stehen bei etwa 20° C versetzt man mit 5 ml einer 10%igen Kaliumjodidlösung und titriert 2 min später mit 0,01 n Thiosulfatlösung das freigewordene Jod. Unter gleichen Bedingungen bestimmt man den Thiosulfatverbrauch in einer Blindprobe. Die Differenz der Thiosulfatverbrauche mit 0,682 multipliziert ergibt die Menge an *Novocainhydrochlorid*. Der gleichen Methode bedient man sich zur Bestimmung von *p-Aminobenzoesäure* allein. 1 ml 0,01 n Thiosulfatlösung = 0,343 mg p-Aminobenzoesäure. — Die Trennung der beiden Stoffe erfolgt, wie oben angegeben, durch Extraktion mit Tetrachlorkohlenstoff. Das bei der Hydrolyse von Novocain ebenfalls entstehende *Diäthylaminoäthanol*, das mit der Novocainbase ausgeschüttelt wird, stört nicht. H. Freytag.

---

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 479 (1952). Dep. of Chem., Univ. of Malaya, Singapore.
[2] Pharmazie **7**, 133 (1952). Pharmakol. Inst., Univ. Leipzig.
[3] Ann. Chimica **42**, 331 (1952). Ist. Super. di Sanità, Rom.
[4] Pharmazie **4**, 510 (1949); vgl. diese Z. **134**, 303 (1951/52).

**Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Methylthiouracil und Propylthiouracil** in Tabletten mit Hilfe von *2,6-Dichlorchinonchlorimid* beschreiben R. A. McAllister und K. W. Howells[1]. — *Arbeitsweise.* Reagenzien: 1. 0,4%ige Lösung von 2,6-Dichlorchinonchlorimid in aldehydfreiem absoluten Alkohol. Das Reagens hält sich in einer braunen Flasche etwa 4 Wochen. 2. Pufferlösung: Zu 50 ml 0,2 m Borsäurelösung in 0,2 m KCl-Lösung fügt man 4 ml 0,2 n Natronlauge und 100 ml 20%ige NaCl-Lösung und füllt mit destilliertem Wasser auf 200 ml auf. Durch Zusatz von 0,1 n Natronlauge stellt man auf $p_H$ 8,0 ein. 3. Aldehydfreier absoluter Alkohol: Man versetzt 500 ml absoluten Alkohol mit 2 g m-Phenylendiamin und läßt 1 Woche im Dunkeln stehen oder kocht 1 Std am Rückflußkühler. Dann destilliert man in einer Glasschliffapparatur ab. Der Alkohol hält sich in einer braunen Flasche unbeschränkt. 4. Standardlösungen: a) 25 mg Propylthiouracil werden in 5 ml aldehydfreiem absoluten Alkohol gelöst. Nach Zusatz von 100 ml Wasser läßt man 10 min stehen und füllt mit Wasser auf 250 ml auf. 1 ml ≙ 100 µg Propylthiouracil. Die Lösung ist 2 Tage haltbar. b) 100 mg 4-Methyl-2-thiouracil werden mit 80 ml Wasser und 0,8 ml konzentriertem Ammoniak übergossen und bis zur Lösung gerührt. Dann füllt man mit Wasser auf 1 l auf. 1 ml ≙ 100 µg Methylthiouracil. Die Lösung ist nicht haltbar. – *Bestimmung von Methylthiouracil.* 1 Tablette (etwa 100 mg Wirkstoff) wird in 80 ml Wasser zerdrückt. Dann versetzt man mit 0,8 ml konz. Ammoniak, rührt 20 min um und füllt mit Wasser auf 1 l auf. Man filtriert vom Ungelösten ab und verdünnt das Filtrat (1 auf 4) mit Wasser. Je 1, 2, 3 und 4 ml dieser Lösung (entspr. etwa 25, 50, 75 und 100 µg Methylthiouracil) werden mit Wasser auf 5 ml ergänzt und mit 5 ml der Pufferlösung und 0,1 ml des Chlorimidreagenses versetzt. Nach dem Mischen läßt man 45 min bei Zimmertemperatur stehen, versetzt dann mit je 10 ml Chloroform und schüttelt den gelben Farbstoff aus. Dann entfernt man die wäßrige Phase und filtriert die Chloroformextrakte durch kleine Filter. Die Lichtabsorption wird unter Verwendung eines violetten Filters gemessen. — *Bestimmung von Propylthiouracil.* 1 Tablette (etwa 25 mg Wirkstoff) wird in einem Becherglas zerdrückt und mit 5 ml aldehydfreiem absoluten Alkohol versetzt. Dann rührt man 20 min um, füllt mit Wasser auf 250 ml auf und filtriert. Weiter verfährt man wie oben angegeben. Die Auswertung erfolgt durch Eichkurven. — Die Farbreaktion ist unter den Bedingungen dieser Methode spezifisch für Thiouracile und Mercaptoimidazole. Magnesiumstearat und Milchzucker stören die Reaktion nicht. H. Sperlich.

**Über die Bestimmung der Flavonole und Flavonolglucoside in Polygonum hydropiper L.** berichten J. Valentin und G. Wagner[2] ausführlich. Die Verf. benutzen die colorimetrische Methode von A. Szent-Györgyi und St. Rusznyak[3], die auf der Reduktion der Flavonole zu den rot gefärbten Anthocyanidinsalzen beruht. Nach Festlegung der optimalen Bedingungen wird folgende Arbeitsvorschrift für die Bestimmung des Gehaltes an Flavonolglucosiden in der Droge empfohlen: Man extrahiert 2,0 g Droge im Soxhlet 3 Std lang mit Chloroform, trocknet den Rückstand 2 Std bei 75° C, wägt eine bestimmte Menge davon ab (10% Extraktionsverlust werden in Rechnung gestellt) und behandelt 3mal je 20 min lang mit 25 ml 96%igem siedendem Alkohol. Man saugt jedesmal scharf ab, vereinigt die Filtrate und füllt auf 100 ml auf. 10 ml dieser Lösung werden in einem 50 ml-Meßkolben mit 0,1 g Magnesiumpulver und 1,5 ml 22,5%iger Salzsäure unter Umschwenken versetzt. Unter dauerndem Umschütteln kühlt man 1 min in fließendem Kaltwasser, läßt 20 min ohne Rücksicht auf ungelöste Mg-Teilchen stehen und mißt dann in

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 259 (1952). Royal Samaritan Hospital, Glasgow.
[2] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **91**, 291 (1952). Univ. Greifswald.
[3] Nature **27**, 138 (1936).

2 cm-Küvette mit Filter S 53. Die Konzentration der Lösung an *Rutin* muß zwischen 5 und 25 mg% liegen. Die Rutinwerte werden einer Eichkurve entnommen. – Zahlreiche Versuchseinzelheiten über die Entwicklung der Methode und ihre Anwendung zur Untersuchung galenischer Zubereitungen mögen dem Original entnommen werden. H. Sperlich.

**Für eine colorimetrische Bestimmung des Alkaloides Pilocarpin** und seiner salpetersauren und salzsauren Salze haben J. W. Webb, R. S. Kelley und A. J. McBay[1] das violette Pilocarpinperchromat benutzt. – Eine wäßrige Lösung des Alkaloides von ungefähr 2 mg ml wird in einem 125 ml-Scheidetrichter auf 5 ml mit Wasser verdünnt und 1 ml 20%ige Essigsäurelösung, 10 ml Chloroform, 1 ml 5%ige Kaliumchromatlösung und 2 ml 3%ige Wasserstoffperoxydlösung zugefügt. Nach 90 sec Schütteln wird das intensiv violett gefärbte Chloroform durch Watte in einen 25 ml-Meßkolben filtriert, mit Chloroform bis zur Marke aufgefüllt und möglichst bald bei einer Wellenlänge von 560 mμ in 1 cm-Küvetten bei einer Spaltbreite von 0,2 mm im Beckmanschen Spektrophotometer gemessen. Die violette Verbindung ist lichtempfindlich und verblaßt bei sinkendem $p_H$-Wert. Beim optimalen $p_H$-Wert von 2,9 folgt die Absorptionskonzentrationskurve dem Beerschen Gesetz. Die colorimetrische Methode erfordert weniger Zeit als die Bestimmung des Stickstoffs, vermeidet die Bildung unbeständiger Alkaloide und kann in schwachen Konzentrationen durchgeführt werden. Die Reagenzien werden nur in annähernd genauen Konzentrationen benötigt und die Schwierigkeiten bei der Bestimmung des Endpunktes der Reaktion fallen fort. Die colorimetrische Methode ergibt eine gute Übereinstimmung mit der üblichen A.O.A.C.-Methode. W. Grütz.

**Die photometrische Bestimmung herzwirksamer Glucoside** von *Digitalis purpurea* mittels der Baljet-Reaktion nach schon mitgeteiltem Verfahren[2] wurde von E. Wegner[3] nachgeprüft. Es zeigte sich, daß die Ermittlung der intakten Glucoside wesentliche Mengen an indifferenten Begleitstoffen einschließt und die fraktionierte Extraktion nach W. Straub[4] keine Digitoxin/Gitoxintrennung gestattet. Hingegen erwies sich als Verbesserung die Bestimmung der Digitalisglucoside nach ihrer Hydrolyse als Genine. Die Abtrennung der die Baljet-Reaktion liefernden nichtglucosidischen Verbindungen ist dadurch möglich. Nach dem modifizierten Verfahren beschränkt man sich auf die Untersuchung wäßriger Digitalisauszüge, in denen man den Gehalt an Digitoxin und Gitoxin (chloroformlöslich) und an Glucosiden unbekannter Art (chloroformunlöslich) feststellt. Übereinstimmung mit den Ergebnissen nach der Digitoxosemethode von E. Soos[5] besteht nicht in allen Fällen. Die Ursachen wären noch zu klären. Untersuchungsgang und Arbeitsvorschriften mögen dem Original entnommen werden. H. Freytag.

**Histamin** kann gravimetrisch nach M. Schmall, E. G. Wollish und J. Galender[6] durch Fällung mit *Nitranilsäure*.

$$\left[\text{3,6-Dinitro-2,5-dioxychinon,}\quad OC\begin{matrix}\diagup C(NO_2):C(OH)\diagdown\\ \diagdown C(OH):C(NO_2)\diagup\end{matrix}CO\right]$$

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 278 (1952). Massachusetts College of Pharmacy, Boston (USA).

[2] E. Wegner, Pharmazie **5**, 226 (1950); vgl. diese Z. **134**, 461 (1951/52).

[3] Pharmazie **7**, 373 (1952).

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **80**, 52 (1917).

[5] Scientia pharmac. **16**, 1 (1948).

[6] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 138 (1952). Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, N.J. (USA).

bestimmt werden. Das molekulare Verhältnis ist 1:1. Man löst 100—150 mg Substanz in 10 ml Wasser, fügt unter Rühren 10 ml 3,5%iger alkoholischer Lösung von Nitranilsäure und nach 15 min 10 ml 95%igen Alkohol zu. Nach 3stündigem Stehen im Kühlschrank wird filtriert, zunächst 4mal mit 5 ml-Anteilen von gekühltem Alkohol, dann mit 10 ml Äthyläther gewaschen, bei 120° C getrocknet und gewogen. 1 mg Niederschlagsgewicht entspricht 0,5394 mg Histamindihydrochlorid oder 0,9009 mg Histaminphosphat. Das Verfahren ist besonders zur Kontrolle von pharmazeutischen Präparaten geeignet, wofür eine ausführliche Arbeitsvorschrift gegeben wird. Reine Salze werden auf 0,2—0,8% genau wiedergefunden. In pharmazeutischen Präparaten beträgt die Reproduzierbarkeit etwa ± 2%.

*Die Bestimmung von Histamin in pharmazeutischen Präparaten* gelingt nach F. C. McIntire[1] mit *2,4-Dinitrofluorbenzol*. Man verdünnt das zu untersuchende Präparat mit sehr kupferarmem Wasser, versetzt mit m $Na_2CO_3$- m $NaHCO_3$-Puffer ($p_H$ 10,2) und so viel 0,04 m Natriumdiäthyldithiocarbamatlösung, daß eine Lösung vorliegt, die 20—100 $\mu$g Histamin/ml, 0,1 m Carbonat und 0,004 m Natriumdiäthyldithiocarbamat enthält. Die Lösung wird zu gleichen Teilen mit einer alkoholischen Dinitrofluorbenzollösung und nach 20 min mit dem 10fachen Volumen 0,11 n NaOH-Lösung gemischt. (Die Dinitrofluorbenzollösung stellt man her, indem man 0,15 ml des bei 30° C geschmolzenen Präparates in 25 ml Alkohol löst.) Man schüttelt dann mit dem gleichen Volumen Benzol aus und mißt die optische Dichte der wäßrigen Phase bei 358 m$\mu$. Der Histamingehalt wird der gradlinig verlaufenden Eichkurve entnommen. Anwesendes Phenol muß vor Ausführung der Histaminbestimmung durch Ausschütteln mit Benzol entfernt werden.

K. Hinsberg.

**Die Bestimmung von Äthylenglykol in Procain-Penicillin** ist nach C. E. Bricker und J. K. Lee[2] notwendig, seitdem Äthylenoxyd zur Sterilisierung derartiger Lösungen verwendet wird. Äthylenglykol und auch Äthylenoxyd setzen sich sehr rasch mit 5%iger $H_5JO_6$-Lösung um und der gebildete Formaldehyd kann leicht mit Chromotropsäure bestimmt werden. Zum Versuch setzt man a) eine Procain-Penicillinlösung ohne Äthylenoxyd (Blindprobe), b) die zu analysierende Probe und c) die zu analysierende Probe mit bekanntem Äthylenglykolzusatz (0,5 g) an, verdünnt mit Wasser auf 5 ml, gibt 1 ml Perjodsäurelösung zu und läßt 10 min bei Zimmertemperatur stehen. Dann fällt man Jodsäure und die überschüssige Perjodsäure mit 1 ml 15%iger Bleiacetatlösung, zentrifugiert und nimmt 1 ml Zentrifugat, die man mit 0,5 ml 10%iger Chromotropsäurelösung und 6 ml konz. Schwefelsäure 30 + 3 min im Wasserbad kocht. Die abgekühlte Reaktionsmischung wird auf 25 ml aufgefüllt und bei 570 m$\mu$ gemessen. Die Reaktion mit Äthylenglykol ist bereits nach 3 min beendet. Auch Procain-Penicillin gibt mit Überjodsäure allmählich eine gelbe bis braune Farbe, die aber bei der gewählten kurzen Reaktionszeit die Colorimetrierung nicht stört. Der Fehler der Methode beträgt ungefähr 10—20 $\mu$g ml. Man kann aber nicht zwischen Äthylenglykol und Äthylenoxyd unterscheiden.

K. Hinsberg.

**Für die Bestimmung von Dihydrostreptomycin und Mannosidostreptomycin** auf Grund der Reaktion mit Perjodsäure geben W. A. Vail und C. E. Bricker[3] neue Arbeitsweisen an. 1 Mol Dihydrostreptomycin (DSM) bildet mit Perjodsäure unter den Bedingungen der Arbeitsvorschrift (siehe unten) 1,02 Mole Formaldehyd, die

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 277 (1952). Abbott Lab., North Chicago, Ill. (USA).

[2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 346 (1952). Dep. Chem., Univ. Princeton, N.J. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **24**, 975 (1952). Dept. Chem., Univ. Princeton, N.J. (USA

nach Umsetzung mit Chromotropsäure spektrophotometrisch bestimmt werden. Der Überschuß an Perjodsäure und die entstandene Jodsäure werden vor dieser Bestimmung in Form ihrer Bleisalze entfernt. 1 Mol Streptomycin (SM) liefert mit Perjodsäure nur 0,2 Mole Formaldehyd, so daß kleine Beimengungen SM (unter 2%) die DSM-Bestimmung nicht stören. Für größere Mengen SM, die man nach W. Eisenman und C. E. Bricker[1] bestimmen kann, muß eine entsprechende Korrektur angebracht werden. — Die über dem Bleiperjodat und Bleijodat stehende Flüssigkeit ist bei Dihydrostreptomycin und Streptomycin gelb, bei Mannosidostreptomycin (MSM) dagegen rosa gefärbt. Auf Grund dieses Farbunterschiedes kann MSM neben SM bestimmt werden.

*Bestimmung von Dihydrostreptomycin.* Man löst die Einwaage der Probe in so viel Wasser, daß eine Lösung mit einem Gehalt von 4—6 mg Salz (Sulfat oder Chlorid) je ml entsteht. 2 ml dieser Lösung versetzt man in einem 10 ml-Meßkolben mit 1,0 ml frisch hergestellter Perjodsäurelösung (1 g $H_5JO_6$ in 10 ml Wasser) und läßt 60—1 min bei Raumtemperatur stehen. Dann fügt man 2,0 ml Bleiacetatlösung zu (7,5 g Trihydrat in 50 ml Wasser), verdünnt auf 10,0 ml und zentrifugiert. Zu 1 ml des klaren Zentrifugats fügt man in einem Reagensglas 0,50 ml 20%iger Chromotropsäurelösung (nicht älter als 3 Tage) und 6,0 ml konz. Schwefelsäure und erhitzt im siedenden Wasserbad 30—3 min lang. Die abgekühlte Lösung wird im Meßkolben auf 25 ml verdünnt. Ihre optische Dichte wird bei 570 mμ gegen eine genau so behandelte Blindprobe gemessen.

*Zur Bestimmung von Mannosidostreptomycin neben Streptomycin* setzt man eine Stammlösung so an, daß 1 ml das Äquivalent von $5 \pm 1{,}0$ mg der Sulfate von MSM + SM enthält. 1,0 ml davon pipettiert man in einen 10 ml-Meßkolben, den man im Wasserbad auf 25° C hält. Nach Zugabe von 1 ml Perjodsäurelösung läßt man das Reaktionsgemisch 30—0,5 min lang stehen, worauf man 2 ml Bleiacetatlösung zufügt. Man verdünnt auf 10,0 ml, filtriert in ein auf 25° C gebrachtes Reagensglas und mißt die optische Dichte eines Teils des klaren Filtrats bei 415 und 485 mμ gegen reines Wasser 180—1 min nach Zugabe der Bleiacetatlösung. Die SM- und MSM-Mengen errechnen sich aus nachstehenden, an reinen Präparaten ermittelten Beziehungen.

$$D_1 = 0{,}147\ A + 0{,}093\ B$$
$$D_2 = 0{,}131\ A + 0{,}194\ B$$

Darin bedeuten $A$ die SM-, $B$ die MSM-Mengen in mg, $D_1$ und $D_2$ die bei 415 bzw. 485 mμ gemessenen optischen Dichten. Kohlenhydrate stören bei dieser Methode nicht, im Gegensatz zu anderen Verfahren[2]. H. Freytag.

**Über die argento-elektrometrische Bestimmung von Tri-(diäthylaminoäthoxy)-1,2,3-benzoltrijodäthylat** (*Sincurarin* der Farmitalia) in Gegenwart von Natriumchlorid berichten Ada Anastasi, E. Mecarelli und L. Novacic[3]. Von der handelsüblichen Lösung, die 2% des Medikamentes und 0,18% NaCl enthält, verbrauchen 5 ml bei der elektrometrischen Nebeneinanderbestimmung der beiden Halogene 3,0—3,5 ml 0,1 n Silbernitratlösung zur Ausfällung des Jods und 4,5—5,0 ml zur Fällung der Summe von Chlorid und Jodid. Es wird die übliche Titrationsvorrichtung für die elektrometrische Maßanalyse mit Silber- und Kalomelelektrode und zwischengeschalteter $KNO_3$-Lösung benutzt. H. Freytag.

[1] Analyt. Chemistry **21**, 1507 (1949); vgl. diese Z. **132**, 467 (1951).

[2] W. B. Emery u. A. D. Walker, Analyst (London) **74**, 455 (1949); vgl. diese Z. **131**, 230 (1950). I. A. Kowald u. R. B. McCormack, Analyt. Chemistry **21**, 1383 (1949); vgl. diese Z. **133**, 461 (1951). D. Perlman, J. biol. Chemistry **179**, 1147 (1949).

[3] Pharmac. Acta Helvetiae **27**, 188 (1952). Lab. Contr. della Farmitalia, Stabilimento di Como (Italien).

**Über die Bestimmung einiger moderner Analgetica (Dolantin, Cliradon, Polamidon, Dromoran)** mit REINECKE-Salz berichten H. VOGT und ILSEMARIE HEEMANN[1]. Die genannten Basen lassen sich quantitativ als Reineckate ausfällen. Die Bestimmung erfolgt dann entweder argentometrisch durch Titration des Rhodananteils der Reineckesäure $[Cr(NH_3)_2(SCN)_4]H$, oder colorimetrisch durch Farbmessung der in Aceton gelösten Reineckate. — *Arbeitsweise.* a) Titrimetrische Bestimmung: etwa 20 mg der Substanz werden in 5—10 ml 1%iger Schwefelsäure gelöst und mit 10 ml frisch bereiteter 1%iger Reineckesalzlösung versetzt. Man kühlt 30 min in Eis, saugt dann den Niederschlag ab und wäscht mit 10—20 ml Eiswasser, bis das Filtrat farblos abläuft. Durch Auftropfen von 2—3 ml Aceton löst man das Reineckat vom Filter, spült Trichter und Filter mit 40 ml Wasser nach, versetzt die Lösung mit 1 ml alkalischer Seignettesalzlösung (FEHLING II) und hydrolysiert durch 10 min langes Erhitzen zum Sieden. Nach dem Erkalten gibt man 20 ml 25%ige Salpetersäure und 5 ml 0,1 n Silbernitratlösung hinzu und titriert mit 0,1 n Ammoniumrhodanidlösung zurück. 1 ml 0,1 n $AgNO_3$-Lösung entspricht 7,09 mg Dolantin, 8,64 mg Polamidon, 11,08 mg Dromoran. b) Colorimetrische Bestimmung: Das nach a) erhaltene, gewaschene Reineckat wird in Aceton gelöst und die Lösung mit Aceton auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Die Farbmessung erfolgt stufenphotometrisch gegen reines Aceton bei 530 mμ (Filter S 53).

H. SPERLICH.

**Zum Nachweis von Ascaridol in Chenopodiumöl** empfiehlt E. WEGNER[2] 2 neue Verfahren, die der jodometrischen[3] und colorimetrischen[4] Methode an Spezifität überlegen sind. Die Verfahren beruhen einerseits auf der Reduktion mit Eisen(II)-sulfat zu Ascaridolglykol[5] andererseits auf der Bildung von Propan bei der Umsetzung mit Titan(III)-chlorid[6]. — *Glykolmethode.* Man schüttelt 2 ml des zu untersuchenden ätherischen Öls etwa 1/2 Std lang mit 20 ml gesättigter $FeSO_4$-Lösung, trennt die wäßrige Phase ab, die den wesentlichen Teil des Ascaridolglykols enthält, und schüttelt sie in einem zweiten Scheidetrichter mit Äther aus. Nach dem Abtrennen der Ätherschicht vertreibt man den Äther, trocknet den Rückstand bei 103° C und wägt. Ein Blindversuch mit Wasser statt $FeSO_4$-Lösung wird gleichzeitig ausgeführt. Man kann den Ascaridolnachweis als erbracht ansehen, wenn der Gewichtsunterschied zwischen Haupt- und Blindversuch mindestens 10 mg beträgt (entsprechend etwa 10% Ascaridol). Kleinere Gewichtsunterschiede sind nicht beweisend. — *Propanmethode.* In einem einfachen, dem KNOP-WAGNERschen Azotometer nachgebildeten Apparat schüttelt man in $N_2$-Atmosphäre 1 ml einer Mischung gleicher Teile Alkohol und zu prüfendem Öl mit 5 ml 15%iger $TiCl_3$-Lösung und 5 ml Wasser und mißt die entwickelte Gasmenge. Der Ascaridolnachweis ist als erbracht anzusehen, wenn mindestens 1 ml Gas gebildet wird (entsprechend 5—10% Ascaridol). — Mit Hilfe der genannten Methoden wurde der Nachweis geführt, daß im ätherischen Öl der Früchte von *Chenopodium ambrosioides L.* beträchtliche Mengen Ascaridol enthalten sind.

---

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **91**, 311 (1952) Univ., Kiel.

[2] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **91**, 43 (1952). Tabakforschungsinst. Forchheim b. Karlsruhe.

[3] Vgl. T. T. COCKING und F. C. HYMAS: Analyst (London) **55**, 180 (1930); vgl. diese Z. **83**, 399 (1931).

[4] KNAFFL-LENZ, E., u. A. HOFMANN: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **267**, 117 (1929).

[5] NELSON, E. K.: J. Amer. chem. Soc. **33**, 1404 (1911).

[6] PAGET, H.: Analyst (London) **51**, 170 (1926); J. chem. Soc. **1938**, 829; vgl. diese Z. **75**, 78 (1928).

In einer eingehenden Kritik weist PH. FRESENIUS[1] auf die Mängel der vorstehenden Nachweismethode hin, die hauptsächlich darin bestehen, daß die zugrunde liegenden Reaktionen ungeklärt sind, daß offenbar nur Nebenprodukte der Umsetzungen erfaßt werden und auch deren Identität nicht feststeht. Nach Meinung des Verf. reichen die jodometrische und die titanometrische Methode zum Ascaridolnachweis vollkomen aus. Als Ergänzung könnte vielleicht die katalytische Hydrierung des Ascaridols dienen, die in glatter Reaktion zu definierten Produkten führt, bisher allerdings für Zwecke seiner analytischen Bestimmung nicht verwendet wurde. — E. WEGNER[2] sucht die Einwände von PH. FRESENIUS zu entkräften. Die Reaktionen sind in erster Linie zum qualitativen Nachweis bestimmt und können nur bei Gleichhaltung aller Bedingungen zur annähernden Schätzung des Ascaridolgehalts verwendet werden. Eine Verdrängung der quantitativen jodometrischen Bestimmungsmethode kommt nicht in Frage.

A. HERRMANN.

**Zur Wertbestimmung aromatischer Wässer** geben B. F. COOPER und E. A. BRECHT[3] ein einfaches Verfahren an. Eine abgemessene Menge des Wassers, z. B. 15 ml, wird bei einer bestimmten Temperatur solange mit einer gesättigten Salzlösung versetzt, bis eine Trübung auftritt. Für diesen Zweck bewährte sich am besten eine gesättigte Natriumcitratlösung. Aus dem Verbrauch an Salzlösung kann mit Hilfe einer Eichkurve, die für jedes ätherische Öl besonders aufzustellen ist, der Sättigungsgrad des aromatischen Wassers berechnet werden. H. SPERLICH.

**Die Methoden zur Bestimmung des ätherischen Öls in Drogen** werden von W. LANG[4] einer kritischen Betrachtung unterzogen. Der Verfasser empfiehlt für ein kommendes neues Arzneibuch das von J. F. CLEVENGER[5] angegebene Verfahren, das auf der volumetrischen Bestimmung des mittels Wasserdampfdestillation übergetriebenen Öls beruht. Eine modifizierte Neo-CLEVENGER-Apparatur[6], die auch für stark schäumende Drogen geeignet ist, wird beschrieben. H. SPERLICH.

**Für die Bestimmung von Carvon in Krauseminzenöl** nach der Sulfitmethode der U.S.P. XIV geben LV. D. SMALL, J. E. DUSENBERRY und W. T. GLOOR[7] eine modifizierte Apparatur an, die mit einem elektromagnetischen Rührer ausgestattet ist und den Verlust flüchtiger Substanzen verhindert. Die Zeitdauer einer Bestimmung wird durch Verwendung dieser Apparatur auf die Hälfte verringert. Außerdem haben die Verf. eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung von Carvon in Krauseminzenol ausgearbeitet. Die Einzelheiten beider Verfahren mögen im Original nachgelesen werden. H. SPERLICH.

**Zur Bestimmung des Azulens in der Kamille und in ihrem ätherischen Öl** entwickelten R. FISCHER und H. RESCH[8] ein einfaches colorimetrisches Verfahren. Es beruht auf der Farbmessung der rein blauen Lösung des Azulens in Xylol (oder in

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **92**, 8 (1953).

[2] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **92**, 11 (1953).

[3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 394 (1952). School of Pharm., Univ. of North-Carolina, Chapil Hill (USA).

[4] Pharmazie **7**, 144 (1952). Lab. d. Katharinenhospital-Apotheke, Stuttgart.

[5] J. Amer. pharmac. Assoc. **17**, 345 (1928); vgl. diese Z. **123**, 46 (1942).

[6] MORITZ, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **276**, 368 (1938); Dtsch. Apotheker-Ztg. **55**, 507 (1940).

[7] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **41**, 280 (1952). Coll. of Pharm., Univ. of Nebraska, Lincoln (USA).

[8] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **91**, 265 (1952). Pharmakogn. Inst., Univ. Graz.

einem Gemisch von Brombenzol und o-Dichlorbenzol) im Langeschen Colorimeter unter Verwendung eines dunkelgrünen Filters mit dem Schwerpunkt 560 m$\mu$. Zur Aufstellung der Eichkurve dient Kamillenöl, dessen Azulengehalt nach H. Kaiser und H. Frey[1] bestimmt wird. — *Ausführung.* Man mischt 10—20 g der unzerkleinerten Droge mit 400 ml gesättigter NaCl-Lösung und unterwirft das Gemisch in dem Destillationsapparat nach R. Wasicky[2] oder H. Panzer[3] 8 Std der Destillation. Das Volumen des übergehenden Öles kann gemessen und sein Prozentgehalt in der Droge berechnet werden. Verzichtet man auf die Messung, so sammelt man das Öl quantitativ, füllt mit dem Lösungsmittel (Xylol oder Halogenbenzole) auf 6 ml auf, mißt die Extinktion wie angegeben und entnimmt den Gehalt der Eichkurve. H. Sperlich.

**Santonin** kann nach Y. Jwayama[4] colorimetrisch bestimmt werden, wenn es in Desmotroposantonin übergeführt und dann mit Diazobenzolsulfosäure zu einem orangeroten Farbstoff gekuppelt wird. Die Methode eignet sich für Mengen von 0,2 bis 1,0 mg Santonin. H. Sperlich.

**Über den Nachweis und die Bestimmung von Hydraziden des Pyridins, insbesondere Isonicotinsäurehydrazid,** berichtet H. Wojahn[5]. Die *Identifizierung* dieser Verbindungen geschieht durch die folgenden Reaktionen, mit denen allerdings eine Unterscheidung zwischen den einzelnen isomeren Monopyridoylhydraziden nicht möglich ist. 1. Silbernitratreaktion: 0,3 ml einer 0,1%igen wäßrigen Lösung von Isonicotinsäurehydrazid werden mit 1 ml einer 5%igen $AgNO_3$-Lösung und 3 Tropfen konz. Ammoniak versetzt und schwach erwärmt: Abscheidung von metallischem Silber, Erfassungsgrenze: etwa 300 $\mu$g. — 2. Kupfersulfatprobe: 10 mg Isonicotinsäurehydrazid werden in 2—5 Tr. Wasser gelöst. In der Lösung entsteht auf Zusatz von 1 Tr. 15%iger Schwefelsäure und 2 ml 10%iger $CuSO_4$-Lösung nach ungefähr 1 Std ein blauer Niederschlag (charakteristisch für heterocyclisch gebundenen Stickstoff). Auf Zusatz von konz. Ammoniak löst sich die Fällung; unter Stickstoffentwicklung trübt sich die Probe durch Abscheidung eines gelben Niederschlags von $Cu_2O$ (charakteristisch für die $NH$-$NH_2$-Gruppe). — 3. Quecksilberchloridprobe: Einige Tr. einer neutralen, 0,1%igen Hydrazidlösung geben mit 0,5—1,0 ml einer 5%igen $HgCl_2$-Lösung eine weiße, kristalline Fällung: Erfassungsgrenze: 10 $\mu$g. Auf Ammoniakzusatz verfärbt sich die Probe unter Abscheidung von metallischem Quecksilber. Um die gleichzeitige Ausfällung von weißem $HgNH_2Cl$ zu vermeiden, ist es zweckmäßig, die Ammoniakreaktion mit dem abgetrennten Hg-Hydrazidniederschlag vorzunehmen. — 4. Dinitrochlorbenzolreaktion: 100 $\mu$g Isonicotinsäurehydrazid werden mit 1 ml einer 1%igen Lösung von 2,4-Dinitrochlorbenzol in 95%igem Alkohol versetzt. Nach 15 min dampft man auf dem Wasserbad ein, trocknet den Rückstand 10 min bei 100—105° C und nimmt mit 10 ml einer 0,1%igen Lösung von NaOH in 95%igem Alkohol auf. Es entsteht eine für Pyridinverbindungen charakteristische Rotfärbung (Aufspaltung des Pyridinsalzes durch Alkali zum gelbroten Glutaconaldehyd. — An Stelle der Silbernitratreaktion können auch andere Reduktionsproben treten (Fehlingsche Lösung, Formazanprobe).

---

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **53**, 1385, 1402 (1938); **54**, 882 (1939); **57**, 155, 163 (1942).

[2] Scientia Pharmaceut. (Wien) **1935**, Nr. 10.

[3] Dtsch. Apotheker-Ztg. **54**, 1000 (1939).

[4] J. Pharmac. Soc. Japan **72**, 719 (1952) [Japanisch]. (Nach der englischen Zusammenfassung referiert.) Pharmacy, Osaka, Univ. Hospital.

[5] Arzneimittel-Forsch. **2**, 324 (1952).

Die *quantitative Bestimmung* von Isonicotinsäurehydrazid kann titrimetrisch in mineralsaurer Lösung mit 0,1 n Kaliumbromatlösung oder in alkalischer Lösung mit 0,1 n Jodlösung erfolgen, wobei Isonicotinsäure und Stickstoff entstehen. Die große Reaktionsgeschwindigkeit erlaubt die direkte Titration mit Bromatlösung (Äthoxychrysoidinhydrochlorid als Indicator). Man kann auch die mit überschüssigem Bromat versetzten Proben nach höchstens 2 min Einwirkungsdauer jodometrisch zurücktitrieren. 1 ml 0,1 n $KBrO_3$-Lösung entspricht 3,428 mg Isonicotinsäurehydrazid. Bei der Hypojodidtitration in der üblichen Ausführung — Jodzusatz zur natronalkalischen Lösung — werden unbefriedigende Werte erhalten, da wahrscheinlich die entstehende Pyridincarbonsäure mit nicht umgesetztem Hydrazid unter Bildung des bis-Pyridoylderivates reagiert. Um diese Umsetzung zu verhindern, muß die Hydrazidlösung bei neutraler oder schwach saurer Reaktion mit einem Überschuß an 0,1 n Jodlösung und dann das Gemisch mit der ausgefallenen braunen Perjodidverbindung mit überschüssiger n Natronlauge in einem Schuß versetzt werden. Der Niederschlag löst sich momentan unter $N_2$-Entwicklung und wird mit 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung zurücktitriert.

T. Canbäck[1] löst *zur Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid* 50 mg Substanz in 50 ml Wasser und versetzt mit 1 g Natriumhydrogencarbonat und 25 ml 0,1 n Jodlösung. Nach 15 min gibt man vorsichtig 10 ml 5 n Salzsäure hinzu und titriert das überschüssige Jod mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung zurück. 1 Mol Isonicotinsäurehydrazid verbraucht zur Oxydation 4 Äquivalente Jod; 1 ml 0,1 n Jodlösung entspricht 0,003428 g $C_6H_7ON_3$. Bei Tabletten zentrifugiert man vor der Zugabe von Natriumhydrogencarbonat von der Tablettenmasse ab und verfährt wie oben beschrieben. H. Sperlich.

## 4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

**Zur Bestimmung von Vitamin A und von Fett in der Fischleber** schlagen C. S. M. Pérez und F. M. Ferrando[2] eine neue Schnellmethode vor. — Die Probe wird mit entfettetem Weizenmehl (oder Pflanzenmehl) angerieben und in einer Säule mit Äther ausgewaschen. Anschließend wird — wie bei Wolff[3] — das Fett gravimetrisch und der Vitamin A-Gehalt auf Grund der Lichtabsorption bestimmt. Diese Bestimmung ist in 1 Std ausführbar. — Die Werte der neuen Methode und der Methode von Wolff[3], beide Methoden nach Morton und Stubbs[4] korrigiert, ergaben gute Vergleichsmöglichkeiten und ausreichende Genauigkeit für Schnellbestimmungen. Irmgard Schweitzer.

**Zur gleichzeitigen colorimetrischen Bestimmung von Vitamin A und D** entwickelte E. V. Rouir[5] ein neues Verfahren, das auf der Farbreaktion des Vitamins A mit aktiviertem α-Dichlorhydrin des Glycerins[6], und auf der Blaufärbung beruht,

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **4**, 407 (1952). Apotekens Kontrollaboratorium, Stockholm, (Schweden).

[2] Inform. Quím. analít. **6**, 12, 30 (1952). Lab. Industr., S. A., Larache (Spanien).

[3] Z. Vitaminforsch. **7**, 227 (1938).

[4] Morton, R. A., und A. L. Stubbs: Analyst. (London) **71**, 348 (1946); Biochemic. J. **41**, 525 (1947); **42**, 195 (1948); vgl. diese Z. **132**, 228 (1951).

[5] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **34**, 234 (1952). Station de Zootechnie de Gembloux.

[6] A. E. Sobel und H. Werbin, J. biol. Chemistry **159**, 681 (1945); Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 570 (1946); vgl. diese Z. **135**, 465 (1952).

die dieses in Chloroform gelöst mit 1% Acetylchlorid enthaltendem Dichlorhydrin liefert[1]. Die Reaktionsfärbung von Vitamin D zeigt ein Maximum bei 6250 Å, die des Vitamins A bei 5500 Å. Die Absorptionen von Vitamin D bei 5500 Å, und von Vitamin A bei 6250 Å sind gering. Zwischen 20 und 30° C übt eine Temperaturänderung auf die Entwicklung der Vitamin D-Färbung keinen Einfluß aus. Dies gilt aber nicht von der Farbreaktion des Vitamin A. Die nähere Untersuchung beider Reaktionen führte zu folgender Arbeitsweise: Man gibt in ein Reagensglas 2 ml Reagens (α-Dichlorhydrin des Glycerins mit 1% frisch destilliertem Acetylchlorid) und 3 ml der zu prüfenden Chloroformlösung. Nach dem Schütteln überträgt man das Gemisch in die Colorimeterzelle. Gemessen wird bei 20—25° C gegen ein Gemisch von 2 ml Reagens und 3 ml reinem Chloroform. Die Messung von Vitamin A bei 5500 Å (Filter S 55) findet 3 min nach Vermischen mit dem Reagens statt, die des Vitamins D bei 6100 Å (Filter S 61) nach 25 min. Für dieses ist das LAMBERT-BEERsche Gesetz nicht erfüllt. weshalb die Berechnung beider Gehalte nicht in üblicher Weise aus 2 Gleichungen mit 2 Unbekannten vorgenommen werden kann. Der Verf. wählte die graphische Näherungsmethode[2]. Im günstigsten Falle beträgt die Genauigkeit der neuen Bestimmung 5%. Sie wird schlecht, wenn einer der Bestandteile gegenüber dem anderen in 4- oder mehrfachem Überschuß vorliegt.

H. FREYTAG.

**Tocopherol.** *Die Bestimmung von Tocopherol* nach dem Verfahren von A. EMMERIE und C. ENGEL[3] wurde von C. DOMART[4] nochmals eingehend untersucht. Die Methode beruht auf der Oxydation von Tocopherol in alkoholischer Lösung durch Eisen(III)-chlorid. Das gebildete Eisen(II)-Ion liefert mit α, α′-Dipyridyl den bekannten roten Komplex, dessen Lösung photometriert wird. Die Farbintensität gehorcht dem BEER-LAMBERTschen Gesetz. Das überschüssige Eisen(III)-chlorid verursacht eine starke Hintergrundabsorption, die beseitigt werden kann, indem man das Eisen durch Zugabe von Kaliumfluorid komplex bindet. — Zur Ausführung der Bestimmung verfährt man im wesentlichen so, daß man zur alkoholischen Tocopherollösung 1 ml einer 0,2%igen alkoholischen Eisen(III)-chloridlösung und nach Schütteln 1 ml einer 0,5%igen alkoholischen Dipyridyllösung zufügt. Nach 8—10 min versetzt man mit 2 ml alkoholischer 0,5%iger Kaliumfluoridlösung, schwenkt wieder, gibt nach 1—2 min 5 ml Acetatpufferlösung ($p_H$ 4,1) zu und füllt dann mit Alkohol auf genau 25 ml auf. Gleichzeitig setzt man eine Blindprobe ohne Tocopherol an. Versuchseinzelheiten sind der Originalarbeit zu entnehmen.

H. FREYTAG.

*Zur Methode der α-Tocopherolbestimmung im Serum* nach EMMERIE und ENGEL macht H.-G. SCHULZ[5] einige Bemerkungen unter Bezugnahme auf eine Arbeit von M. KOFLER[6]. Dieser hatte zwecks Aufnahme der Eichkurve für die colorimetrische Bestimmung vorgeschlagen, den durch saure Verseifung gewonnenen alkoholischen α-Tocopherolextrakt direkt mit Cer(IV)-sulfatlösung zu titrieren. Da aber der vorhandene Alkohol auch angegriffen wird, schlägt Verf. folgendes Ver-

[1] G. PIRLOT und E. V. ROUIR, Bull. Soc. chim. Belgique **56**, 296 (1946); ROUIR und PIRLOT, Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **29**, 1005 (1947).

[2] B. B. BRATTAIN, R. S. RASMUSSEN und A. M. CRAVATH, J. appl. Physics **14**, 418 (1943). — D. L. FRY, R. E. NUSBAUM und H. M. RANDALL, J. appl. Physics **17**, 150 (1946).

[3] Recueil Trav. chim. Pays-Bas **57**, 1351 (1938); vgl. diese Z. **123**, 56 (1942).

[4] J. Urology **10**, 199 (1952). Inspection technique du Service des Substances, Paris.

[5] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **288**, 31 (1952). Mediz. Univ.-Klinik, Göttingen.

[6] Helv. chim. Acta **30**, 1069 (1947).

fahren vor: Man verdampft den aus α-Tocopherolacetat nach Verseifung mit methanolischer Kalilauge (zweckmäßig im $N_2$-Strom) gewonnenen Extrakt, nimmt mit Petroläther auf, wäscht mit 50%igem Alkohol, n Salzsäure und Wasser und schüttelt dann 20 ml des Extraktes mit 50 ml 0,01 n $Ce(SO_4)_2$-Lösung und 2 ml 20%iger Schwefelsäure 20 min kräftig. Nach dem Abtrennen gibt man zur Cer(IV)-Lösung unter Erwärmen auf 70° C 40 ml 0,01 n Oxalsäure und 2 ml 20%ige Schwefelsäure und titriert schließlich den Oxalsäureüberschuß mit 0,01 n $KMnO_4$-Lösung zurück. — Zur Reinigung des Petrolätherextraktes von störenden gefärbten Substanzen ist die Adsorption an Aluminiumoxyd nach KOFLER allein nicht ausreichend. Es wird eine Säule mit zusätzlicher Watteschicht empfohlen: Gepreßte, mit Petroläther entfettete Watte (H = 6 cm, Durchmesser 2 cm), schwach aktives Aluminiumoxyd (H = 6 cm, Durchmesser 1,5 cm). Der Extrakt ist dann meist farblos.

A. KURTENACKER.

*Die chemische Bestimmung von Tocopherol im tierischen Material* wird von R. W. SWICK und C. A. BAUMANN[1] in Anlehnung an die Untersuchung von M. L. QUAIFE und M. Y. DJU[2] folgendermaßen durchgeführt: 10 g Gewebe werden in Gegenwart von Alkohol mit einem WARING-Blendor völlig homogenisiert und erschöpfend extrahiert. Zu dem im SOXHLET-Apparat befindlichen Extrakt setzt man 10 ml alkoholische 2%ige KOH-Lösung mit 0,5% p-Acetylaminphenol als Antioxydans zu. Man erhitzt 30 min, wobei gleichzeitig die Extrakte auf 50 ml konzentriert werden. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit gleichem Volumen Wasser, sättigt mit Natriumsulfat und extrahiert das Unverseifbare mit 25 ml Petroläther. Der Petroläther wird über Natriumsulfat getrocknet, und ein aliquoter Teil, der 20—1000 μg Tocopherol enthalten soll, im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der in 2 ml redestilliertem Benzol gelöste Rückstand wird an Floridin XXS adsorbiert und mit 6 ml Benzol in kleinen Portionen nachgewaschen. Im Eluat befindet sich das Tocopherol, während Vitamin A und Carotine vollständig zurückbleiben. Den nach dem Verdampfen des Benzols zurückbleibenden Rückstand löst man in 8 ml absolutem Äthylalkohol, setzt 1 ml 5%ige Lösung von α,α'-Dipyridyl in Alkohol und 1 ml 0,2%ige Lösung von Eisen(III)-chlorid in absolutem Äthylalkohol zu und mißt die Extinktion nach 5—15 sec bei 515 mμ. Verglichen mit den Angaben in der Literatur werden mit der beschriebenen Methode kleinere Werte gefunden. Die Differenzen variieren mit den verschiedenen Organen. Bei Verwendung von Ölen und Getreide sind die Unterschiede nicht so beträchtlich. In Zusatzversuchen zu Milz oder Fett wurde kein Tocopherolverlust gefunden. Da auch viele andere Substanzen das EMMERIE-ENGEL-Reagens reduzieren, glauben die Autoren, daß die niedrigeren Werte die richtigeren sind.

*Zur chemischen Bestimmung von Tocopherol in Faeces* und zur Messung der Faecalausscheidung von Tocopherol beim Menschen modifizierten G. KLATSKIN und D. W. MOLANDER[3] die Methode von QUAIFE und HARRIS[4], die auf einer Molekulardestillation bei niedrigem Druck beruht. Tocopherol wird dann mit Hilfe der Reaktion von EMMERIE-ENGEL[5] (Bildung des roten Eisen(II)-dipyridylkomplexes mit α, α'-Dipyridyl und Eisen(III)-chlorid) colorimetrisch bestimmt. Der unter den üblichen Kautelen abgegrenzte Stuhl wird vollkommen homogenisiert, in der Kälte getrocknet, extrahiert, aus dem Destillationsrückstand wird durch Molekular-

[1] Analyt. Chemistry **24**, 758 (1952). Univ. Wisconsin, Madison, Wis. (USA).

[2] J. biol. Chemistry **180**, 263 (1949).

[3] J. Lab. clin. Med. **39**, 802 (1952). Yale Univ., New Haven, Conn. (USA).

[4] QUAIFE, MARY L., and P. L. HARRIS: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 707 (1946); vgl. diese Z. **129**, 462 (1949).

[5] Rec. Trav. chim. Pays-Bas **57**, 1351 (1938); vgl. diese Z. **123**, 56 (1942).

destillation das Tocopherol in eine Kältefalle abdestilliert. Obschon QUAIFE und HARRIS einen Druck von 1 $\mu$ vorschreiben, gelingt nach den Beobachtungen der Autoren die Destillation auch bei 10 $\mu$. Zur Verseifung von Tocopherolestern ist eine Spezialapparatur, welche die Einwirkung von Sauerstoff ausschließt, notwendig. Während bei der Destillationsmethode 99,8 $\pm$ 1,5% wiedergefunden werden, sind bei der Verseifungsmethode die Ausbeuten nur 91,6 $\pm$ 10,1 bzw. 87 $\pm$ 5,8%. Die Differenzen zwischen Doppelbestimmungen schwanken zwischen 0,1—29,8%. Beim Menschen wird eine tägliche Ausscheidung von 21,6 $\pm$ 2,9 mg bei gesunden Erwachsenen gefunden, entsprechend 64,4% der Nahrungsaufnahme. Bei Krankenhauspatienten war die Ausscheidung 16,4 $\pm$ 2,8 mg (53,5%). Personen mit LAENNECscher Cirrhose schieden nur 7,4 $\pm$ 3 mg (35,3%) aus. In den Faeces werden normalerweise keine Tocopherolester gefunden, nur nach großen Dosen von Tocopherolacetat. K. HINSBERG.

**Bestimmung der 17-Ketosteroide.** BARBARA M. BRAY[1] teilt einige Beobachtungen über die Verwendung von GIRARDS-Reagens T bei der Aufarbeitung roher Urinextrakte zur 17-Ketosteroidebestimmung mit. Das GIRARDS-Reagens P gibt schlechtere Ausbeuten als das Reagens T. Es werden verglichen die Methoden von A. GIRARD und G. SANDELESCU[2], N. B. TALBOT, A. M. BUTLER und E. A. MACLACHLAN[3], dann von N. B. TALBOT, A. M. BUTLER, E. A. MACLACHLAN und R. N. JONES[4], W. R. BUTT, P. MORRIS, C. J. O. R. MORRIS und D. C. WILLIAMS[5] sowie A. S. ZYGMUNTOWICZ, M. WOOD, E. CHRISTO und N. B. TALBOT[6]. Bei der Herstellung der Urinextrakte wurden 300 ml Harn zuerst mit 5 g Zinksulfat gefällt und vom Filtrat 250 ml zur Extraktion mit Benzol verwendet. Gebraucht man 0,2 g GIRARDS-Reagens in 0,5 ml Eisessig, bei 4—5 mg Dehydroisoandrosteron (DHA) im Trockenrückstand des Extraktes, so schwankt die Ausbeute zwischen 79—98%. Wird der Harnniederschlag im Vakuum getrocknet, so steigt die Ausbeute nicht wesentlich. Nach ZIMMERMANN oder PETTENKOFER werden dieselben Ergebnisse erhalten. Werden größere Harnmengen aufgearbeitet, so ist es nötig, in kleinen Portionen einzudampfen, damit der Rückstand in einer dünnen Schicht verteilt ist. Hierzu gibt man dann 0,2 g GIRARDS-Reagens T in 0,5 ml Eisessig, verschließt gut, erwärmt 3 min im kochenden Wasserbad, kühlt in Eiswasser, setzt 3 ml 10%ige NaOH-Lösung zu und extrahiert die Nichtketosteroide mit Äther (3mal 20 ml). Die Ätherextrakte werden 3mal mit 20 ml Wasser rückextrahiert und diese Waschwässer zusammen mit der alkalischen Lösung mit 1 ml konz. Schwefelsäure angesäuert. Nach 2 Std ist die Spaltung vollständig, die Ketosteroide werden mit 3mal 20 ml Äther extrahiert und nach ZIMMERMANN bestimmt. Die Ausbeuten betragen 94%. K. HINSBERG.

[1] Analyst (London) **77**, 426 (1952). Guy's Hospital, London, S. E. 1.
[2] Helvet. chim. Acta **19**, 1095 (1936).
[3] J. biol. Chemistry **132**, 595 (1940).
[4] J. biol. Chemistry **136**, 365 (1941).
[5] Biochemic. J. **49**, 434 (1951).
[6] J. Clin. Endocrinol. **11**, 578 (1951).